

Aus der Milchwirtschaftlichen Abteilung
der Justus Liebig-Universität Gießen
Abteilungsleiter: Prof. Dr. E. Renner

MÖGLICHKEITEN DER OBJEKTIVIERUNG
BEI DER SENSORISCHEN BEURTEILUNG VON
LEBENSMITTELN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG
KORRESPONDIERENDER CHEMISCHER PARAMETER

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
am Fachbereich
für Angewandte Genetik und Leistungsphysiologie der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

GÜNTER RÖMER
aus Chemnitz

Gießen 1974

Aus der Milchwirtschaftlichen Abteilung
der Justus Liebig-Universität Gießen
Abteilungsleiter: Prof. Dr. E. Renner

MÖGLICHKEITEN DER OBJEKTIVIERUNG
BEI DER SENSORISCHEN BEURTEILUNG VON
LEBENSMITTELN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG
KORRESPONDIERENDER CHEMISCHER PARAMETER



INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
am Fachbereich
für Angewandte Genetik und Leistungsphysiologie der Tiere
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

GÜNTER RÖMER

aus Chemnitz

Gießen 1974

2. Die deutsche Sprache

3. Die deutsche Literatur

4. Die deutsche Sprache

5. Die deutsche Literatur

6. Die deutsche Sprache

7. Die deutsche Literatur

8. Die deutsche Sprache

9. Die deutsche Literatur

10. Die deutsche Sprache

11. Die deutsche Literatur

12. Die deutsche Sprache

13. Die deutsche Literatur

14. Die deutsche Sprache

15. Die deutsche Literatur

16. Die deutsche Sprache

17. Die deutsche Literatur

18. Die deutsche Sprache

19. Die deutsche Literatur

20. Die deutsche Sprache

21. Die deutsche Literatur

22. Die deutsche Sprache

23. Die deutsche Literatur

24. Die deutsche Sprache



Meinen Eltern gewidmet



Dekan: Prof. Dr. K. H. Finger

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. E. Renner
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. E. Menden

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 12. 1974

Einleitung	1
------------	---

I. THEORETISCHE GRUNDLAGEN DER GERUCHS- UND GESCHMACKSEMPFINDUNG

1. Die Geschmacksempfindung	2
2. Die Geruchsempfindung	3
3. Chemische Struktur und Geschmack	4
4. Chemische Struktur und Geruch	6

II. METHODISCHER TEIL

A. Sensorische Methoden

1. Einteilung sensorischer Prüfverfahren	8
2. Unterschiedsprüfungen	8
3. Der Tetraden-Test	11
4. Ergebnisse aus der Anwendung der Tetraden-Tests	13
5. Die statistische Auswertung des Tetraden-Tests	16
6. Die Beurteilung sensorischer Prüfpersonen	17
7. Prüfer-Beurteilung mit dem Tetraden-Test	19
8. Die Beurteilung sensorischer Prüfpersonen aufgrund ihrer Geschmacksschwellenwerte	23
9. Sensorische Qualitätsprüfungen	28
10. Versuche zur Anwendung eines Hilfsstandards als interne Standard-Probe	30
11. Beschreibung der untersuchten Proben	32
12. Modifizierung des DLG-Schemas zur Beurteilung gelagerter Proben	33
13. Durchführung der Prüfungen	37

IV. DISKUSSION	98
V. ZUSAMMENFASSUNG	106
VI. LITERATURVERZEICHNIS	109

B. Chemische Methoden

1. Bestimmung der freien Aminosäuren	39
2. Bestimmung von Hydroxymethylfurfural (HMF)	41
3. Bestimmung der Fettsäure-Zusammensetzung der Triglyceride und der freien Fettsäuren	44
4. Isolierung und gaschromatographische Auftrennung der Aromastoffe	50
5. Bestimmung von Vitamin C	62

III. ERGEBNISSE

A. Ergebnisse aus sensorischen Untersuchungen

1. Einfluß der Lagerungszeit unter extremen Bedingungen auf die sensorische Beurteilung	63
2. Einfluß der Verpackung auf das Lagerverhalten	73
3. Einfluß der Zusammensetzung auf das Lagerverhalten	74

B. Ergebnisse aus chemischen Untersuchungen

1. Veränderung der freien Aminosäuren (FAS) während der Lagerung	79
2. Veränderung der Gehalte an Hydroxymethylfurfural (HMF) während der Lagerung	81
3. Änderung der pH-Werte im Laufe der Lagerung	85
4. Veränderung der Vitamin C-Gehalte während der Lagerung	86
5. Veränderung der Fettsäuren-Zusammensetzung während der Lagerung	88
6. Gaschromatographische Analyse der isolierten Aromakonzentrate	91
7. Versuch zur Identifizierung einiger gaschromatographisch erfaßbarer Aromasubstanzen	93

Einleitung

Die wichtigsten qualitätsbestimmenden Eigenschaften eines Lebensmittels sind sein Nährwert und sein Genußwert. Während man unter Nährwert den Gehalt an verdaulichem Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten, aber auch an Wirkstoffen wie Vitaminen versteht, ist der Genußwert durch die sensorischen Eigenschaften: Geruch, Geschmack, Farbe und Konsistenz bestimmt. Darüber hinaus spielen bei der Beurteilung der Qualität eines Lebensmittels ernährungsphysiologische, hygienische und lebensmittelrechtliche Faktoren eine Rolle. Die Bestimmung des Nährwertes erfolgt durch Anwendung exakter chemischer und physikalischer Analysen-Methoden. Die Messung der sensorisch wahrnehmbaren Eigenschaften ist jedoch nur in bestimmten Fällen mit objektiven, technischen Geräten möglich. Zur Bestimmung von Farb- und Konsistenzwerten stehen heute für verschiedene, standardisierte Lebensmittel physikalische Meßgeräte zur Verfügung. Die zur Beurteilung von Geruch und Geschmack eingesetzten „Meßgeräte“ sind menschliche Prüfpersonen. Trotz Verfeinerung der Methoden ist es bis heute nicht möglich, den Geschmacks- und Geruchseindruck eines Lebensmittels durch chemische oder physikalische Verfahren darzustellen und damit den subjektiven menschlichen Prüfer durch eine objektive Meßmethode zu ersetzen. Ziel der Sensorik muß es daher sein, die angewandten sensorischen Prüfmethoden soweit wie möglich zu objektivieren und damit die nur mit den Sinnen wahrnehmbaren Eigenschaften und Veränderungen eines Lebensmittels exakt und reproduzierbar zu erfassen.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Möglichkeiten der Objektivierung der sensorischen Analyse. Dieses Ziel wurde in zwei Schritten angestrebt: Durch Weiterentwicklung der sensorischen Unterschiedsprüfung zu einem analytischen Meßsystem mit reproduzierbaren Ergebnissen und durch Erfassung chemisch-physikalisch meßbarer Daten, die mit der Bildung des Geruchs- und Geschmackseindrucks im Zusammenhang stehen.

Der entstandene Nervenreiz wird zum Gehirn weitergeleitet und führt dort zur Entstehung des Geschmacksbildes. PLATTIG (5) konnte durch Versuche zeigen, daß sich die vier Grundgeschmacksarten auch durch elektrische Reizung der Rezeptorzellen von Versuchspersonen erzeugen lassen. Dabei hängt die Art des elektrisch erzeugten Geschmacksbildes von der Dauer der Reizung und von der Frequenz des Reizstromes ab. DASTOLI et al. (6 - 9) isolierten aus Geschmacksknospen der Rinderzunge ein Protein, welches die Eigenschaft hatte, mit Zuckern und Süßstoffen lockere Komplexe zu bilden. Die gleiche Arbeitsgruppe isolierte aus Schweinezunge ein Protein, welches Bitterstoffe zu binden imstande war. Die Stärke der gebildeten Komplexe stand in eindeutiger Beziehung zur Geschmacksintensität des jeweiligen Geschmacksstoffs (9).

2. Die Geruchsempfindung

Für das Zustandekommen eines Geruchsreizes ist es Voraussetzung, daß der Geruchsstoff flüchtig ist und zum Riechepithel der inneren Nase gelangt. Die Substanz löst sich dort auf der Oberfläche der olfaktorischen Rezeptoren, um dort durch Wechselwirkung mit dem Rezeptor einen Nervenreiz zu erzeugen (4, 10). Als mögliche Reaktionspartner mit der Geruchssubstanz werden von ROSENBERG (11) Carotine angenommen, die in den Riech-Epithelien verschiedener Tiere nachgewiesen wurden. All-trans- β Carotin hat Halbleiter-Eigenschaften und MISRA et al. (12) fanden beim Überleiten von verschiedenen Gasen über β -Carotin-Kristalle eine Stromverstärkung bis auf das 10^7 -fache. Die Stromverstärkung war abhängig von der Konzentration und Art des Gases. Sie fanden sogar eine Korrelation zwischen Geruchsintensität und Stromverstärkung. Weiter wurde festgestellt, daß sich zwischen Carotin-Molekül und Gas ein lockerer Elektronen-Donator-Acceptor-Komplex ausbildete. Diese einfache Theorie kann jedoch nicht ohne Zweifel übernommen werden. So dauert es, bis die Stromverstärkung im Halbleiter β -Carotin ihr Maximum erreicht, Minuten, während der entsprechende Nervenreiz eines stimulierten olfaktorischen Rezeptors in wenigen Millisekunden sein Maximum erreicht.

I. THEORETISCHE GRUNDLAGEN DER GERUCHS- UND GESCHMACKSEMPFINDUNG

1. Die Geschmacksempfindung

Unser Geschmacksempfindungsorgan unterscheidet vier Hauptgeschmacksrichtungen: süß, sauer, bitter und salzig. Auf der Oberseite der Zunge, im Gaumen und bei den Stimmritzen finden sich beim Erwachsenen ca. 9.000 Geschmackspapillen, die als Rezeptoren für Geschmacksstoffe fungieren (1).

Obwohl jede Geschmackspapille auf verschiedene Geschmacksreize reagiert (2), sind die Empfindlichkeiten für die Geschmacksarten nicht gleichmäßig verteilt. Süß wird an der Zungenspitze am intensivsten empfunden, am vorderen seitlichen Zungenrand wird salzig, am seitlichen Zungenrand sauer und im Zungengrund wird bitter bevorzugt wahrgenommen.

Die Intensität der Geschmacksempfindung hängt ab von der Konzentration und Temperatur des Geschmacksstoffs (3) und der Größe der gereizten Fläche. Bei längerer Einwirkung eines Geschmacksreizes kommt es zu einer Adaptation, d.h. der betreffende Geschmackseindruck wird subjektiv nicht mehr wahrgenommen. Dieser Effekt ist selektiv. McNAMARA und DANKER (4) konnten zeigen, daß die Adaptation an ein Salz die Empfindlichkeit gegenüber anderen anorganischen Salzen nicht beeinflusst. Bei Säuren, wo der Geschmacksreiz durch H-Ionen erzeugt wird, ist die Adaption unspezifisch. Eine Adaption an einen süßen Geschmacksstoff beeinflusst die Empfindlichkeit gegenüber anderen Süßstoffen nicht. Bittere Substanzen zeigen eine, verglichen mit anderen Geschmacksstoffen, länger dauernde Geschmacksempfindung, möglicherweise wegen einer hohen Affinität zu den Geschmackspapillen (4).

Es wird angenommen, daß der Geschmackseindruck durch eine Wechselwirkung zwischen dem Geschmacksstoff und den entsprechenden Rezeptoren der Geschmackspapillen zustandekommt.

Der rein salzige Geschmack wird durch Kochsalz erzeugt. Salze anderer Halogene mit Alkalien oder Ammonium sowie Alkalisalze höherer organischer Säuren ergeben ebenfalls eine salzig-ähnliche Assoziation, die jedoch mit süßlichen, bitteren oder adstringierenden Eindrücken verbunden ist.

Süß schmeckenden Verbindungen gehören verschiedenen Stoffklassen an. Nach SHALLENBERGER und ACREE (16, 17, 18) ist das Prinzip des süßen Geschmacks ein Protonendonator-Protonenakzeptor System im Abstand von ca. $3 \text{ \AA}$, welches unter Ausbildung von Wasserstoff-Brücken mit dem Rezeptor-Molekül in Wechselwirkung tritt. Diese Bedingung wird von Zuckern und anderen Polyolen mit benachbarten Hydroxylgruppen, von Süßstoffen, bestimmten Aminosäuren aber auch von Chloroform erfüllt (19, 20).

Bittere Geschmackseindrücke werden ebenfalls in verschiedenen Stoffklassen angetroffen. Typische Bitterstoffe sind Alkaloide, diverse Terpene, Peptide und Glycoside, aber auch anorganische Salze wie Magnesiumsulfat. Ein allgemein gültiges Prinzip für die chemische Struktur eines Bitterstoffs ist nicht bekannt. Innerhalb einzelner bitter schmeckender Verbindungsklassen sind jedoch gewisse Parallelen zwischen chemischer Konstitution und Geschmackseindruck zu erkennen. So sind die L-Isomeren aller α -Aminosäuren bitter (21). Bittere Peptide haben eine auffallende Häufung von Aminosäureresten mit hydrophoben Seitenketten (19). NEY (22) berechnete die mittlere Hydrophobie von Peptiden und konnte bei allen bisher bekannten synthetischen Peptiden zutreffende Voraussagen über deren Bitterkeit machen. MAYER und WITTIG (23) sehen eine Thiocarbonylgruppierung mit benachbartem π -Elektronenpaar als wirksames Bitter-Prinzip bei schwefelhaltigen Bitterstoffen.

Eine Sonderstellung nehmen die sogenannten Geschmacksverstärker ein. Dies sind Substanzen, die in Kombination mit Geschmacksstoffen deren Geschmackseindruck verstärken, ohne selbst einen nennenswerten Eigengeschmack zu besitzen. Wichtigste Vertreter sind: Maltol für süßen Geschmack, Natriumglutamat und Nucleotide für die salzige Geschmacksrichtung (24 - 26).

Außerdem ist die Konzentration an β -Carotin in den Riech-Epithelien der einzelnen Tiere außerordentlich gering; z. T. konnte Carotin überhaupt nicht nachgewiesen werden (13). RANDEBROCK (14) sieht eine Peptidkette in Form einer α -Helix als wirksamen Reaktionspartner mit dem Geruchsstoff. Der Nervenreiz soll dabei, ähnlich wie bei der Entstehung des Geschmacksreizes, durch Ausbildung von Wasserstoff-Brücken zustande kommen. Beim längeren Andauern eines bestimmten Geruchsreizes kommt es, wie beim Geschmack, zu einer Adaptation. Dieser Effekt ist ebenfalls spezifisch.

Von MOULTON (15) durchgeführte Versuche an Kaninchen zeigten, daß sich die elektrische Aktivität der Geruchsnerven auch bei längerer Einwirkung eines Geruchsreizes nicht ändert. Es ist daher anzunehmen, daß sich die Adaptation nicht im Bereich der Rezeptorzellen vollzieht. Mit ansteigender Konzentration des Riechstoffs und mit Erhöhung der Temperatur nimmt die Geruchsintensität zu. Die Gesetzmäßigkeit dieser Zusammenhänge wurden von HERRMANN (10) untersucht und entsprechende Gleichungen abgeleitet. Dabei zeigte es sich, daß zwischen Konzentration bzw. Temperatur und der Intensität der Empfindung kein linearer, sondern ein logarithmischer Zusammenhang besteht.

3. Chemische Struktur und Geschmack

Da es sich bei Geschmacks- und Geruchsreizstoffen um definierte chemische Verbindungen handelt, liegt es nahe, einen Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und Geschmack bzw. Geruch zu suchen. Im Falle unseres Geschmacksorgans, welches nur vier Hauptgeschmacksrichtungen unterscheidet, scheinen die Zusammenhänge leichter durchschaubar zu sein als beim Geruch, wo die Zahl der verschiedenen Geruchseindrücke um ein Vielfaches höher ist.

Der saure Geschmackseindruck wird durch H-Ionen hervorgerufen, wobei auch die Art des zugehörigen Anions einen Einfluß auf die Geschmacksintensität bei gleicher H-Ionen-Konzentration hat.

WRIGHT (33, 34) untersuchte den Zusammenhang zwischen dem Geruch einer Substanz und deren Infrarot- und Raman-Spektren, wobei hauptsächlich der Bereich unterhalb 700 cm^{-1} beobachtet wurde¹. In diesem langwelligen Teil des Spektrums werden im wesentlichen Deformationsschwingungen der C-C-Ketten angeregt. Die Schwingungstheorie geht davon aus, daß die Molekülschwingungen zwar nicht für den Geruchseindruck verantwortlich sind, jedoch mit dem Geruch in Beziehung stehen.

Es wurden auch Modelle für eine chemische oder chemisch-physikalische Wechselwirkung zwischen Geruchssubstanz und Rezeptor aufgestellt:

Nach einer Theorie von MULLINS (35) kommen Geruchseindrücke durch unterschiedliche Löslichkeiten der Geruchsstoffe in den verschiedenen Membranen der Neuronen zustande. Das olfaktorische System müßte demnach aus Rezeptoren bestehen, die sich im Lösungsvermögen für flüchtige Substanzen unterscheiden. DRAVNIKS (36, 37) weitete diese Theorie aus, indem er die Möglichkeit der Geruchssubstanzen, als Elektronendonator bzw. -Acceptorsysteme zu wirken, mit einbezog.

Der Geruchseindruck, den eine Substanz vermittelt, ist abhängig von der stereo-chemischen Molekülstruktur. So zeigten von TERANISHI (38) durchgeführte Untersuchungen am Beispiel von Nootkatone, dem typischen Geschmacksstoff der Grapefruit, daß bereits die unterschiedliche Stellung von Wasserstoffatomen einen starken Einfluß auf den Geruch hatte. Auch die Einführung funktioneller Gruppen verändert den Aroma-Eindruck und den Schwellenwert beträchtlich. Untersuchungen von SEIFERT et al. (39) ergaben Schwellenwerte für Pyrazin und 2-Methoxy-3-hexyl-Pyrazin, die sich um den Faktor 10^8 unterschieden.

¹ Die Angabe der Wellenlänge bei der iR-Spektroskopie erfolgt gewöhnlich in Wellenzahlen mit der Dimension cm^{-1} . $700\text{ cm}^{-1} = 0.00143\text{ cm} = 14,3\mu$

Untersuchungen über die Wirkungen von Natriumglutamat haben ergeben, daß die Geschmacksempfindlichkeit gegenüber salzig und bitter verstärkt wird, während bei süß und sauer keine Beeinflussung beobachtet wurde (27). NEY (26) führt die Wirkung von L-Natriumglutamat auf zwei negative Ladungen des Moleküls im Abstand 4 - 6 C-Atome zurück. Untersuchungen an Tieren zeigten, daß Natriumglutamat und Nucleotide die Geschmacksrezeptoren stimulieren (28). KUNINAKA (29) sieht bei Natriumglutamat ein eigenes Geschmacksprinzip.

Natriumglutamat und Nucleotide haben einen gegenseitigen synergistischen Einfluß. Bemerkenswert ist die deutliche Erniedrigung der Schwellenwerte von Natriumglutamat und Nucleotiden, wenn beide Komponenten in Mischung vorliegen (30).

4. Chemische Struktur und Geruch

Der Zusammenhang zwischen der chemischen Konstitution und dem Geruchseindruck ist Gegenstand intensiver Forschungsarbeit. Eine hierbei auftretende Schwierigkeit ist die außerordentliche Vielzahl der verschiedenen Geruchseindrücke. Es wurde daher verschiedentlich versucht, die große Zahl der Gerüche auf wenige Grundgerüche zurückzuführen, und einen Zusammenhang zwischen der Eigenart der Moleküle und dem sensorischen Eindruck zu suchen. Verschiedene Mechanismen werden diskutiert:

Nach einer von AMOORE (31, 32) ausgearbeiteten Theorie ist für den spezifischen Geruch einer Substanz die Gestalt des Moleküls, und, bei sehr kleinen Molekülen, die Anwesenheit elektrophiler bzw. nucleophiler Gruppen verantwortlich. AMOORE postuliert fünf Grundgerüche: ätherisch, nach Campher, moschus-artig, blumig und nach Pfefferminz. Über 100 chemische Substanzen wurden im Vergleich zu entsprechenden Standard-Geruchslösungen der fünf Grundgerüchen nach einem 8-Punkte-Schema aufgrund ihrer Geruchs-Ähnlichkeit beurteilt. Die stereo-chemische Struktur dieser Verbindungen wurde dann mittels der „shadow-matching“-Methode, die die Ähnlichkeit der zu beurteilenden Substanz mit der vorgegebenen Standard-Geruchssubstanz vergleicht, ebenfalls in einen Zahlenwert umgesetzt. Die zwischen beiden Zahlengruppen gefundene Korrelation ist statistisch hoch signifikant ($FG=108$, $r=0,52^{***}$). Das olfaktorische System besteht demnach aus Rezeptoren, die durch unterschiedliche Molekülstrukturen stimuliert werden.

Die Zweiprobe-Methode wird in zwei Versionen beschrieben:

Einmal muß der Prüfer entscheiden, ob zwei gereichte Proben gleich oder identisch sind (45), im anderen Fall muß der Prüfer von paarweise gereichten Proben diejenigen auswählen, bei denen ein bestimmtes Eigenschaftsmerkmal stärker oder schwächer ausgeprägt ist (41, 43).

Beim Duo-Trio-Test erhält der Prüfer zuerst eine Vergleichsprobe, dann zwei Analysenproben, aus denen er die mit der Vergleichsprobe identische herausfinden muß. Ein Rück-Kosten ist hierbei nicht erlaubt (45, 46).

Der Triangel-Test, der in den Laboratorien von JOSEPH E. SEAGRAM and SONS entwickelt wurde (47), erfuhr im Laufe der Zeit verschiedene Veränderungen und Verbesserungen. In der ursprünglichen Form des Tests erhält der Prüfer drei Proben von denen zwei identisch sind, vorgelegt. Die abweichende Probe ist vom Prüfer zu ermitteln (25, 44, 50, 51).

Bei der Zweivergleichsproben-Methode (dual standard test) werden zuerst zwei als Kontrollprobe und Abweichung bezeichnete Proben vorgelegt. Es folgen weitere, unbezeichnete Probenpaare, die entsprechend zuzuordnen sind (40, 44, 46).

Eine als Vielproben-Test (multi sample test) bezeichnete Unterschiedsprüfung wird so ausgeführt, daß mehrere Proben der beiden zu vergleichenden Produkte vorgelegt werden. Der Prüfer muß diese in zwei Gruppen jeweils identischer Proben sortieren (48).

Rangordnungsprüfungen werden eingesetzt, wenn mehr als zwei Produkte in bezug auf ein bestimmtes Beurteilungsmerkmal verglichen werden sollen. Die Proben werden vom Prüfer in steigender oder fallender Intensität angeordnet (25, 43, 45, 49, 50).

Unterschiedsprüfungen, sofern sie nicht als Bevorzugungsprüfungen eingesetzt werden, ergeben entweder eine richtige oder eine falsche Antwort (one tailed tests).

II. METHODISCHER TEIL

A. Sensorische Methoden

1. Einteilung sensorischer Prüfverfahren

Sensorische Prüfverfahren werden in zwei Gruppen eingeteilt:

a) Prüfungen, aus denen ein objektives, reproduzierbares Ergebnis erwartet wird. Es sind dies

- 1) Unterschiedsprüfungen
- 2) Qualitätsprüfungen
- 3) Rangordnungsprüfungen
- 4) Schwellenwertprüfungen

b) Beliebtheits- und Bevorzugungsprüfungen. Hierbei ist das Ergebnis das spontane, subjektive Urteil der Prüfer.

2. Unterschiedsprüfungen

In der Qualitätskontrolle, bei Haltbarkeitsversuchen und Reklamationen werden zur Ermittlung kleinster sensorischer Abweichungen von einem vorgegebenen Standard häufig Unterschiedsprüfungen angewandt. Sensorische Unterschiedsprüfungen sollen feststellen, ob sich zwei oder mehr Produkte generell oder in bezug auf bestimmte sensorische Merkmale voneinander unterscheiden. Diese Prüfungen werden allgemein zu den objektiven sensorischen Tests gezählt, da hierbei von der subjektiven Bewertung des Prüfers abstrahiert wird.

Im Laufe der letzten 20 Jahre haben sich eine Reihe verschiedener Arten von Unterschiedsprüfungen entwickelt, die sich in Prüfungsdurchführung und Aussagegenauigkeit unterscheiden.

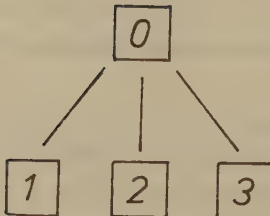
Die Einproben-Methode wird so durchgeführt, daß zu Beginn der Prüfung eine Bezugsprobe mehrfach gereicht wird. Im folgenden werden nacheinander die Analysenproben gereicht, von denen die mit der Vergleichsprobe identischen herausgefunden werden müssen (40 - 45).

3. Der Tetraden-Test

Zur Durchführung einer Prüfung erhält jeder Prüfer vier Proben, eine mit „Null“ bezeichnete Vergleichsprobe (Standard) sowie drei mit „1“, „2“ und „3“ bezeichnete Analysenproben. Von den drei zu beurteilenden Proben sind eine oder zwei Proben mit dem Standard identisch, zwei oder eine weichen davon ab. Der Prüfer hat nun durch sensorischen Vergleich mit dem Standard die Abweichungsprobe (n) herauszufinden. Die Reihenfolge des Kostens ist nicht vorgeschrieben. Es ergeben sich sechs mögliche richtige Antworten (Tab. 1).

Tabelle 1

Anordnung der Proben beim Tetraden-Test



Mögliche richtige Antworten:

- | | |
|---|-------|
| 1 | 1 + 2 |
| 2 | 1 + 3 |
| 3 | 2 + 3 |

Eine häufig angewandte Form der Unterschiedsprüfung ist der Triangeltest. Ein Vorteil dieses Tests gegenüber anderen, einfachen Unterschiedsprüfungen ist die geringere Rate-Wahrscheinlichkeit.

Bei der Einproben-Methode, der Zweiproben-Methode, beim Duo-Trio-Test und bei der Zweivergleichsproben-Methode sind jeweils zwei Antworten möglich, das bedeutet, daß hierbei die Wahrscheinlichkeit, ein richtiges Ergebnis durch Raten zu erhalten, 50 % ist. Der Triangeltest mit seinen drei möglichen richtigen Antworten ergibt jedoch eine Rate-Wahrscheinlichkeit von nur 33,3 %. Um ein gesichertes Ergebnis zu erhalten, müssen also beim Triangeltest weniger Prüfungen durchgeführt werden, bzw. es sind weniger Prüfer erforderlich, als bei anderen Unterschiedsprüfungen. Eine weitere Herabsetzung der Rate-Wahrscheinlichkeit ist möglich, wenn zu den drei Analysenproben, ähnlich wie beim Duo-Trio-Test, noch eine Bezugs- oder Nullprobe gegeben wird. Diese Form der Unterschiedsprüfung, die man als eine weiterentwickelte Form des Duo-Trio-Tests oder des Triangel-Tests auffassen könnte, wurde von WILDBRETT (52) und STEGER-MEINL (53) als „erweiterter Triangeltest“ beschrieben. Nach KIERMEIER und RENNER (54) wird der „erweiterte Triangeltest“ so ausgeführt, daß der Prüfer nach Erkennen der abweichenden Proben zusätzlich den Grad der Abweichung angeben muß.

Diese Form der Unterschiedsprüfung wurde weiterentwickelt und zur Abgrenzung gegenüber dem „erweiterten Triangeltest“ bzw. Duo-Trio-Test als „Tetraden-Test“ bezeichnet (Tetrade = ein aus vier Einheiten bestehendes Ganzes).

Tabelle 2 - Prüfbogen für Unterschiedsprüfung

Prüfbogen für Unterschiedsprüfung

Datum.....

Prüfgut.....Name.....

Sie erhalten eine oder mehrere Probengruppen von jeweils vier Proben (0, 1, 2, 3). Die mit 0 bezeichnete Probe ist die Standard-Probe. Von dieser Standard-Probe weicht (weichen) eine oder zwei der mit 1, 2 und 3 bezeichneten Proben ab.

Bitte prüfen Sie durch Vergleich mit dem Standard:

Welche Probe(n) weicht (weichen) vom Standard ab?

Art der Probe	Probengruppe	Abweichung	Woran haben Sie die Abweichung erkannt?
	A		
	B		
	C		
	D		

4. Ergebnisse aus der Anwendung des Tetraden-Tests

Bei der Untersuchung von Fehlurteilen beim Triangeltest stellten verschiedene Autoren (41, 45, 49, 56) eine Verteilung zugunsten der mittleren Probe fest. HARRISON und ELDER (49) untersuchten dazu 76 Fehlurteile einer Kaffee-Prüfung und stellten fest, daß zu 60 % die mittlere der gereichten Proben als abweichend erkannt wurde, was anstatt der erwarteten Zufallsverteilung von 1 : 1 : 1 einer Verteilung von etwa 1 : 2 : 1 entspricht. Zu fast gleichen Ergebnissen kam HARRIES (57) bei einem mehrfach durchgeführten Triangeltest identischer Proben. Eine Erklärung für dieses Phänomen ist unter anderem in einer Vorliebe für Symmetrie zu suchen (49).

Da eine Abweichung von der theoretischen Zufallsverteilung bei der mathematischen Auswertung von Unterschiedsprüfungen gegebenenfalls zu berücksichtigen wäre, mußte geprüft werden, ob für den Tetraden-Test beim Prüfer ebenfalls die Tendenz besteht, beim Fehlen eines eindeutigen Unterschiedes eine bestimmte Probe oder Probengruppe als abweichend herauszustellen.

Als günstige Tageszeit für die Durchführung einer Prüfung hat sich die Zeit kurz vor dem Mittagessen erwiesen. Zu anderen Tageszeiten durchgeführte Prüfungen führten zu weniger guten Ergebnissen und sind bei den Prüfern unbeliebt. Zu Beginn werden die Prüfer kurz über den Zweck der Prüfung unterrichtet. Absprachen der Prüfer während der Prüfung sind untersagt.

Der Prüfraum muß gut gelüftet und geruchsfrei sein. Um eine optische Beeinflussung der Prüfer durch evtl. leichte Farbunterschiede der Proben auszuschließen, hat sich eine Beleuchtung des Raumes mit einer 90-Watt-Hochdruck-Natriumdampf-Lampe bewährt, die über der Mitte des Tisches angebracht ist, an dem die Prüfungen durchgeführt werden. Auch durch Mischen eines geschmackfreien Farbstoffes unter das Prüfgut läßt sich eine Beeinflussung ausschalten. Strukturunterschiede werden durch Homogenisieren ausgeglichen.

Eine Prüfergruppe setzt sich normalerweise aus 7 - 11 geschulten Prüfern zusammen. Die Proben werden, sofern es sich um feste oder halbflüssige Produkte handelt, in viereckigen neutralen, weißen Porzellanschalen von ca. 100 ml Inhalt gereicht. Werden flüssige Proben verkostet, so haben sich dickwandige (zum Konstanthalten der Temperatur) hohe Gläser mit geschweiftem Rand (sog. Färbebecher) von 100 ml Fassungsvermögen gut bewährt.

Bei den mit dem Tetraden-Test durchgeführten Prüfungen von Milch und Milchprodukten hat es sich als günstig erwiesen, die Proben in angewärmtem Zustand zu verkosten. Eine Temperaturerhöhung beeinflußt die Flüchtigkeit von Geruchssubstanzen, außerdem bewirkt sie eine Gefäßerweiterung der Schleimhäute, wodurch sensorische Unterschiede stärker hervortreten. Eine zu hohe Temperatur verursacht eine Anschwellung der Schleimhäute, wodurch die Intensität der Geruchsempfindung wieder abnimmt (55). Es hat sich als optimal erwiesen, flüssige und halbfeste Proben auf eine Temperatur von 38 - 40 °C anzuwärmen und unmittelbar vor dem Verkosten in ebenfalls vorgewärmte Probengefäße zu geben.

Jeder Prüfer erhält einen Prüfbogen (Tab. 2), auf dem das Ergebnis schriftlich niederzulegen ist. Eine Prüfung enthält nicht mehr als vier Durchgänge.

1. Fehltrurteile, die dadurch zustande kommen, daß

- a) zur richtig erkannten 1. Probe eine 2. Probe „dazugeraten“ wird, wenn die Abweichung als Einzelprobe vorliegt.
- b) zur richtig erkannten 1. Probe die 2. Probe nicht gefunden wird, wenn die Abweichung als Doppelprobe vorliegt.
- c) zur richtig erkannten 1. Probe eine 2. Probe falsch dazuerkannt wird, wenn die Abweichung als Doppelprobe vorliegt.

Diesen Arten von Fehltrurteilen ist gemeinsam, daß mit der richtigen Abweichung eine Ziffer gemeinsam ist. Sie werden deshalb im folgenden als „partielle“ Fehltrurteile bezeichnet.

2. Fehltrurteile, die mit der richtigen Abweichung keine Ziffer gemeinsam haben. Sie werden im folgenden als „komplette“ Fehltrurteile bezeichnet.

Theoretisch ist die erwartete Verteilung zwischen partiellen und kompletten Fehltrurteilen 3 : 2. Die gefundene Verteilung von 480 : 300 ergibt bei einem χ^2 -Wert von 0,77, daß diese Verteilung der theoretisch erwarteten entspricht, daß also die Häufigkeitsverteilung der Fehltrurteile in dieser Hinsicht als zufällig anzusehen ist.

Die gefundene Verteilung der drei Typen partieller Fehltrurteile lautet für

a) 2. Probe „dazugeraten“:	180
b) 2. Probe fehlt:	187
c) 2. Probe falsch:	113

Da die partiellen Fehltrurteile theoretisch wie 1 : 1 : 1 verteilt sind, weicht die empirisch ermittelte Verteilung mit einem χ^2 -Wert von 22,98*** statistisch gesichert von der erwarteten Verteilung ab.

Aus über 700 sensorischen Prüfungen mit dem Tetraden-Test wurden 150 Prüfungen mit nicht signifikantem oder schwach signifikantem Ergebnis ausgewählt, und zwar so, daß jede der sechs möglichen Abweichungen, nämlich 1, 2, 3, 1 + 2, 1 + 3 und 2 + 3 je 25mal als richtiges Ergebnis vorkam. Damit war „Chancengleichheit“ für alle möglichen Fehlurteile gegeben. Es ergaben sich insgesamt 780 Fehlurteile, die sich wie folgt verteilen:

Abweichende Probe(n)	Häufigkeit	
	Zahl	in %
1	116	14,9
2	154	19,7
3	143	18,3
1 + 2	133	17,1
1 + 3	121	15,5
2 + 3	113	14,5

Diese gefundene Verteilung in der Häufigkeit der Fehlurteile wurde statistisch mit der theoretisch zu erwartenden zufälligen Verteilung, die jeweils 16,7 % oder 130 Fälle beträgt, mit Hilfe des χ^2 -Tests (58) verglichen. Der errechnete χ^2 -Wert von 10,15 ist nicht signifikant (für $p = 5\%$: $\chi^2 = 11,07$), so daß festgestellt werden kann, daß die gefundene Verteilung mit der theoretisch erwarteten übereinstimmt. Wenn daher zunächst der Eindruck entsteht, daß die Probe 2 bevorzugt gewählt wird, so ergibt sich doch aus der statistischen Auswertung, daß durch die Prüfer beim Fehlen eines echten sensorischen Unterschiedes keine der 6 möglichen Abweichungen signifikant bevorzugt wird.

Ob die Fehlurteile in ihrer Häufigkeit einer zufälligen Verteilung folgen, kann anhand einer weiteren Auswertung geprüft werden, da sich die beim Tetraden-Test auftretenden Fehlurteile in zwei große Gruppen zusammenfassen lassen:

Tabelle 3 - Statistische Auswertung des Tetraden-Tests

Zahl der Prüfer oder Prüfungen	Zahl der erforderlichen richtigen Urteile für eine statistische Sicherheit von		
	$p = 5 \%$	$p = 1 \%$	$p = 0,1 \%$
1	1	-	-
2	2	2	-
3	2	3	3
4	3	3	4
5	3	3	4
6	3	4	5
7	4	4	5
8	4	5	5
9	4	5	6
10	4	5	6
11	5	6	6
12	5	6	7
13	5	6	7
14	6	6	7
15	6	7	8
16	6	7	8
17	6	7	8
18	7	8	9
19	7	8	9
20	7	8	9
21	7	8	10
22	8	9	10
23	8	9	10
24	8	9	11
25	8	9	11
26	9	10	11
27	9	10	11
28	9	10	12
29	9	10	12
30	9	11	12

6. Die Beurteilung sensorischer Prüfpersonen

Die Verlässlichkeit der Ergebnisse aus sensorischen Prüfungen ist nicht zuletzt abhängig von der Objektivität des Urteils der Prüfer. Auf die Wichtigkeit einer Prüferbeurteilung und Prüferauslese wird daher immer wieder hingewiesen. Das bei der sensorischen Analyse benutzte Meßinstrument sollte, wie bei jeder exakten Messung, hinsichtlich seiner Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bekannt sein (43).

Diese Abweichung bei einem Teil der Fehlurteile gegenüber der erwarteten Häufigkeit kann jedoch sogar positiv bewertet werden, da sich daraus zwei Schlußfolgerungen ziehen lassen:

1. Beim Prüfer besteht keine Neigung, eine zweite Probe zur richtig erkannten ersten „dazuzuraten“, wenn die Abweichung als Einzelprobe vorliegt. Das ergibt sich aus dem statistischen Vergleich der Werte in den Gruppen a und b durch die Übereinstimmung der erwarteten mit der theoretischen Verteilung ($\chi^2 = 0,13$).
2. Die Wahrscheinlichkeit, daß zur richtig erkannten ersten Probe eine zweite Probe falsch dazugeraten wird, sofern die Abweichung in Form einer Doppelprobe vorliegt, ist geringer, als theoretisch zu erwarten wäre. Das zeigt der Vergleich der Gruppen b und c, wobei die Häufigkeit c signifikant geringer ist als es der erwarteten Verteilung von 1 : 1 entsprechen würde ($\chi^2 = 18,25^{***}$).

5. Die statistische Auswertung des Tetraden-Tests

Aus den gefundenen Ergebnissen geht hervor, daß beim Prüfer keine statistisch gesicherte Tendenz besteht, beim Fehlen eines echten, sensorisch feststellbaren Unterschieds eine der sechs möglichen Antworten des Tetraden-Tests zu bevorzugen. Es kann daher mit Hilfe des χ^2 -Tests eine Tabelle angefertigt werden, die auf einer Rate-Wahrscheinlichkeit von 16,7 % beim Tetraden-Test beruht und aus der in Abhängigkeit von der Zahl der Prüfer oder Prüfungen abgelesen werden kann, welche Anzahl von richtigen Urteilen für die statistische Sicherheit der Ergebnisse erforderlich ist (Tab. 3).

Den Tetraden-Test lediglich als erweiterten Triangel-Test aufzufassen und daher die Auswertungstabelle des Triangel-Tests anzuwenden, würde einen Informationsverlust bedeuten, da die für diesen Test gültige Auswertungstabelle auf einer Rate-Wahrscheinlichkeit von 33,3 % basiert.

Zur Beurteilung des Unterscheidungsvermögens der Prüfer und zur Prüferauslese wird von verschiedenen Autoren der Triangeltest mit vorgegebenem oder steigendem Schwierigkeitsgrad angewandt (42, 45, 50, 64, 66 - 68). BINDER (64), KIERMEIER und HAEVECKER (43) und AMERINE et al. (25) empfehlen, den Triangeltest in Verbindung mit einer Sequentialanalyse durchzuführen. Der Schwierigkeitsgrad des zur Prüferbeurteilung herangezogenen Triangeltests ist oft nicht ausreichend definiert (66, 68). KRUM (45) und die American Society for Testing and Materials (ASTM) (50) schlagen vor, den Schwierigkeitsgrad des Triangeltests so einzustellen, daß die Anzahl der richtigen Ergebnisse signifikant über der Rate-Wahrscheinlichkeit von 33,3 %, aber nicht über 80 % liegt.

Die eigenen Untersuchungen hatten das Ziel, die Beurteilung sensorischer Prüfpersonen aufgrund ihrer Entscheidungsfähigkeit bei sensorischen Unterschiedsprüfungen am Beispiel des Tetrudentests zu objektivieren. Gleichzeitig wurde geprüft, ob sich zwischen den aus den Prüfungen mit dem Tetrudentest gewonnenen Ergebnissen und den Geschmacksschwellenwerten derselben Prüfer eine Beziehung ableiten läßt.

7. Prüfer-Beurteilung mit dem Tetraden-Test

Insgesamt wurden etwa 2500 Einzelergebnisse aus Prüfungen mit dem Tetrudentest, die sich über einen Zeitraum von zwei Jahren erstreckten, zur Beurteilung von 21 Prüfpersonen herangezogen. Die Prüferzahl pro Prüfung lag bei 7 - 11 Personen¹. Zur Bewertung wurden nur solche Prüfungen herangezogen, bei denen mindestens ein richtiges oder ein falsches Ergebnis vorlag. Auf diese Weise blieben extrem leichte und extrem schwere Prüfungen unberücksichtigt.

Für jeden Prüfer wurde zunächst ermittelt, wie hoch der Prozentsatz seiner richtigen Ergebnisse bei Prüfungen mit statistisch signifikantem Ergebnis ($p < 0,05$) und bei Prüfungen mit statistisch nicht signifikantem Ergebnis ($p > 0,05$) war. Die Höhe dieser Prozent-Werte gibt erste Aufschlüsse über die Fähigkeiten des Prüfers.

¹ Den Damen und Herren der Degustationsgruppe der Entwicklungsabteilung der Milupa AG sei an dieser Stelle herzlich gedankt.

In der Literatur werden verschiedene Verfahren beschrieben, geeignete Prüfer auszuwählen, bzw. Personen von einer Prüfergruppe auszuscheiden, deren sensorisches Urteilsvermögen angezweifelt werden muß. Unter anderem werden Fragebögen vorgeschlagen, auf denen Angaben über Erfahrungen und Möglichkeit der Teilnahme bei sensorischen Prüfungen, Alter, Geschlecht, Gesundheitszustand, Rauch- und Eßgewohnheiten gemacht werden müssen (45). Nach AMERINE et al. (25) ist jedoch der Wert dieser Informationen zweifelhaft. Sie sind vielmehr der Meinung, daß Genauigkeit und Verlässlichkeit des Prüfers von seinem Interesse, seinen Kenntnissen und seinem Erinnerungsvermögen abhängt. Über das optimale Alter sensorischer Prüfpersonen herrscht keine einhellige Meinung. Während TILGNER (42) bei 18 - 22 jährigen Prüfern das beste sensorische Unterscheidungsvermögen fand, schlägt KRUM (45) Prüfer im Alter zwischen 20 und 50 Jahren vor. Das Geschlecht der Prüfer hat nach KRUM (45) und HEMPENIUS et al. (59) keinen Einfluß auf die Befähigung als Prüfer, während TILGNER und BARYLKO-PIKIELMA (60) bei Frauen eine erhöhte Sensibilität gegenüber süß und salzig fanden. KRUM (45) und HEMPENIUS et al. (59) fanden bei ihren Untersuchungen keinen Einfluß der Rauchgewohnheiten auf das sensorische Urteilsvermögen. FISCHER (61) fand bei 268 männlichen und weiblichen Nichtrauchern im Alter von 16 - 55 Jahren keinen Unterschied im Erkennungsschwellenwert für Chinin oder 6-n-Propylthiourazil. Bei 127 starken Rauchern beiderlei Geschlechts dagegen stieg der Bitter-Schwellenwert signifikant mit zunehmendem Alter an.

Als objektive Beurteilungsmöglichkeiten für sensorische Prüfpersonen werden in der DDR und der UdSSR das Erkennen der vier Grundgeschmacksarten, die Geschmacksschwellenwerte, die Fähigkeit des Erkennens von Geschmacksunterschieden und eine Prüfung mit Farbkonzentrationsreihen herangezogen (62, 63). Eine häufig angewandte Methode zur Prüferbeurteilung und -Auslese ist die Ermittlung der Geschmacksschwellenwerte (25, 41, 45, 62, 63).

Jeder Prüfer, der an einer Prüfung mit 25 % richtigen Ergebnissen beteiligt war, erhielt demnach 75 Punkte. Für jeden Prüfer wurden nun die erreichten Punkte P aufsummiert und durch die Anzahl n der Prüfungen, an denen der betreffende Prüfer teilgenommen hatte, dividiert. Es ergab sich so für jeden Prüfer ein Beurteilungsquotient BQ:

$$BQ = \frac{\sum P}{n} .$$

Die Höhe des Beurteilungsquotienten BQ kann als objektives Maß für die Befähigung eines Prüfers gelten. Die Prüferbeurteilung mit dem Tetraden-Test bei 10 ausgewählten Prüfern ergab folgende Ergebnisse (Tab. 5):

Tabelle 5

Beispiele für die Berechnung von Beurteilungsquotienten für sensorische Prüfpersonen.

Prüfer	n	P	BQ
A	247	5575	22,6
B	236	5850	24,8
C	149	1805	12,1
D	211	2190	10,4
E	186	3330	17,9
F	133	2680	20,2
G	208	3255	15,7
H	236	4215	17,9
I	160	2775	17,3
K	142	2070	14,6

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, handelt es sich bei den Prüfern A und B um sehr gute, bei C und D um die deutlich schwächsten Prüfer. Als Durchschnittswert für alle von uns beurteilten Prüfpersonen wurde ein BQ von $18,0 \pm 4,7$ ermittelt. Grenzwerte für den BQ zur Festlegung weniger geeigneter Prüfer können nicht angegeben werden, da diese Werte mit den bei den einzelnen Prüfergruppen erhaltenen Mittelwerten in Beziehung gesetzt werden müssen.

Liegen beide Werte um 17 %, so handelt es sich um einen ungeeigneten Prüfer, dessen richtige Entscheidungen nur aufgrund der zufälligen Rate-Wahrscheinlichkeit (beim Tetradentest 16,7 %) zustande kommen. Liegt der Prozent-Wert für richtige Ergebnisse bei nichtsignifikanten Prüfungen über 30 %, so kann dies als Hinweis darauf gelten, daß die richtigen Ergebnisse des Prüfers bei Prüfungen ohne statistisch gesicherten Unterschied nicht auf Zufall beruhen, sondern tatsächlich sensorisch ermittelt wurden.

Die Höhe der Prozent-Werte gibt jedoch noch kein endgültiges Urteil über die Befähigung des Prüfers, da der unterschiedliche Schwierigkeitsgrad der einzelnen Prüfungen nicht berücksichtigt wurde. Als Kriterium für den Schwierigkeitsgrad einer Prüfung wurde der Prozentsatz richtiger Ergebnisse bei dieser Prüfung festgelegt. Da beim Tetradentest die Signifikanz-Grenze ($p < 0,05$) bei einer mittleren Prüferzahl (7 - 11) im Gegensatz zu anderen Unterschiedsprüfungen bereits bei 50 % liegt, ergibt sich eine starke Auffächerung der statistisch signifikanten und der nicht signifikanten Prüfungen in verschiedene Schwierigkeitsgrade. Die zur Beurteilung herangezogenen Prüfungen mit dem Tetraden-Test wurden zur Erleichterung der Auswertung in Gruppen eingeteilt, die sich im Schwierigkeitsgrad um jeweils 5 % unterschieden. Für jede Prüfung wurde eine Punktbewertung so festgelegt, daß die für eine bestimmte Prüfung erreichte Punktzahl gleich dem Wert 100 abzüglich Schwierigkeitsgrad in % entsprach (Tab. 4).

Tabelle 4

Klassifizierung von Prüfungen mit dem Tetraden-Test in verschiedene Schwierigkeitsgrade.

Prozentzahl richtiger Ergebnisse:																			
	-10	-15	-20	-25	-30	-35	-40	-45	-50	-55	-60	-65	-70	-75	-80	-85	-90		
Punkte:	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30	25	20	15	10		

R_1 = Prozentsatz richtiger Ergebnisse bei Prüfungen mit signifikantem
Resultat

R_2 = Prozentsatz richtiger Ergebnisse bei Prüfungen mit nicht signifi-
kantem Resultat

Als Durchschnittswerte wurden $BQ_1 = 17,7 \pm 3,9$ und $BQ_2 = 19,3 \pm 7,8$ ermittelt.

Ein, gemessen am Durchschnitt hoher Wert für BQ_1 kann als Maß für hohe Zuverlässigkeit des Prüfers gelten, da bei der Berechnung von BQ_1 nur diejenigen Prüfungen berücksichtigt wurden, bei denen tatsächlich ein statistisch gesicherter Unterschied ermittelt wurde. Liegt der Wert für BQ_2 über dem Durchschnitt, so läßt dies darauf schließen, daß es sich um einen Prüfer handelt, der auch dann noch sensorische Unterschiede wahrnimmt, wenn als Ergebnis der Prüfung keine statistisch gesicherte Differenz festgestellt wurde. Es handelt sich dabei demnach um einen Prüfer von hohem sensorischem Unterscheidungsvermögen.

Zwischen den Werten BQ_1 und BQ_2 besteht eine Korrelation (+ 0,82**), woraus zu folgern ist, daß sich Prüfer mit hohen BQ_1 - Werten in ihrer Unterscheidungsfähigkeit auch bei statistisch nicht signifikanten Prüfungen vom Durchschnitt abheben. Dies wird gestützt durch die Werte für R_2 , aus denen hervorgeht, daß qualifizierte Prüfer im Prozentsatz richtiger Ergebnisse bei Prüfungen ohne signifikantes Ergebnis deutlich über der Rate-Wahrscheinlichkeit von 16,7 % liegen.

8. Die Beurteilung sensorischer Prüfpersonen ausgrund ihrer Geschmacksschwellenwerte.

Es werden drei Arten von Schwellenwerten beschrieben:

1. Der Reizschwellenwert (sensitivity threshold), bei dem der Prüfer einen Unterschied zum reinen Lösungsmittel erkennt.
2. Der Erkennungsschwellenwert (identification threshold), bei dem der spezifische Geschmack erkannt wird.

Eine Möglichkeit zur Festsetzung eines Grenzwertes für den BQ besteht darin, die untere Schranke der Standardabweichung s des Mittelwertes einzusetzen. Ein Prüfer müßte demnach die Bedingung erfüllen, daß sein

$$BQ \geq \overline{BQ} - \sqrt{\frac{\sum (BQ)^2 - \overline{BQ} \cdot \sum BQ}{n-1}}$$

ist. Hierbei ist der $\overline{BQ}$ der durchschnittliche BQ der betreffenden Prüfergruppe, n die Zahl der Prüfer.

Am aufgezeigten Beispiel (Tab. 5) wären somit bei einer Standardabweichung $s = \pm 4,7$ diejenigen Prüfer von der Prüfergruppe auszuschließen, deren BQ den Wert 13,3 unterschreitet, also die Prüfer C und D.

Eine weitergehende Differenzierung der Beurteilungskriterien für die Prüfpersonen ist möglich, wenn man die Ergebnisse aus Prüfungen mit statistisch signifikantem und aus Prüfungen mit nicht signifikantem Resultat einzeln bewertet. Dabei werden die Punkte für signifikante Prüfungen mit P_1 und die Punkte für nicht signifikante Prüfungen mit P_2 bezeichnet. Es werden die Beurteilungsquotienten

$$BQ_1 = \frac{\sum P_1}{n_1}$$

und

$$BQ_2 = \frac{\sum P_2}{n_2}$$

berechnet, wobei n_1 die Anzahl der signifikanten und n_2 die Anzahl der nicht signifikanten Prüfungen sind, an denen teilgenommen wurde. Die Werte für BQ_1 und BQ_2 sowie die Prozentwerte richtiger Ergebnisse der Prüfer A, B, C und D sind in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6

Differenzierte Beurteilungskriterien für vier sensorische Prüfpersonen.

Prüfer	n_1	n_2	R_1	R_2	BQ_1	BQ_2
A	173	74	79,1	43,2	19,5	29,9
B	176	60	93,8	53,3	24,5	25,6
C	100	49	56,0	14,3	13,3	9,7
D	149	62	41,6	16,1	10,0	11,3

Als Lösungsmittel und Vergleichsstandard wurde kohlensäurefreies, geschmacksneutrales Mineralwasser (Contrex) verwendet. Mit Leitungswasser durchgeführte Versuche erbrachten gleiche Schwellenwerte, jedoch wurde der Eigengeschmack gechlorten Leitungswassers als störend empfunden. Auf die Verwendung von destilliertem Wasser als Lösungsmittel und Bezugsprobe wurde verzichtet, da destilliertes Wasser einen ungewohnten Eigengeschmack aufweist. Außerdem wurde es dem Prüfer beim Test freigestellt, die zu testenden Lösungen zu schlucken, was bei 30 zu verkostenden Proben eine unerwünschte Zufuhr von destilliertem Wasser bedeutet hätte.

Es hat sich bewährt, die höchsten Konzentrationen an den Anfang zu setzen und als Vergleichsstandard Wasser gleicher Temperatur zu reichen. Es wird damit dem Prüfungskandidaten die Möglichkeit gegeben, sich mit den vier Grundgeschmacksarten vertraut zu machen.

Die Auswertung der für 21 Testpersonen ermittelten Geschmacksschwellenwerte erfolgte nach dem χ^2 - Test, wobei eine statistische Sicherheit von 99,9 % bei einer Rate-Wahrscheinlichkeit von 1 : 5 zugrundegelegt wurde. Die gefundenen Werte, im Vergleich zu Ergebnissen anderer Autoren, sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7 Geschmacksschwellenwerte
angegeben in mmol/l

Geschmacks- eindruck	eig. Untersuch. mit Schwankungsbreite	andere Autoren :
süß (Saccharose)	6,4 (3,2 - 25,6)	11,7 ^{a)} ; 17,0 ^{b)} ; 10,0 ^{c)} ; 16,0 ^{d)} ; 7,3 ^{f)} ;
salzig (Kochsalz)	6,4 (3,2 - 51,2)	30,8 ^{a)} ; 29,9 ^{b)} ; 51,0 ^{c)} ; 15,7 ^{d)} ; 23,9 ^{f)} ;
sauer (Citronensäure)	1,6 (0,8 - 6,4)	-- 0,8 ^{b)} ; 2,5 ^{c)} ; -- 1,3 ^{e)} ;
bitter (Chinin)	0,0026 (0,00064 - 0,02048)	0,008 ^{a)} ; 0,03 ^{b)} ; -- -- 0,015 ^{g)} ;

3. Der Sättigungsschwellenwert, bei dem eine Erhöhung der Konzentration der Geschmackssubstanz keine Veränderung des Geschmackseindrucks mehr bewirkt.

Zur Ermittlung der Schwellenwerte wird u. a. der Triangeltest (45,69) und der Duo-Trio-Test (49) angewandt.

Die eigenen Untersuchungen beschäftigten sich mit der Ermittlung des Erkennungsschwellenwertes. Das dabei angewandte Verfahren war eine Modifizierung der von KOUWENHOVEN (48) beschriebenen Methode. Dabei wurden dem Prüfer 30 neutrale Gläser mit den Geschmacksrichtungen süß, sauer, bitter und salzig in verschiedener Intensität oder neutral in gemischter Reihenfolge vorgelegt. Dadurch ist die Wahrscheinlichkeit, die richtige Geschmacksart durch Raten zu erhalten, 1 : 5, außerdem kann mit einem Test auf alle vier Grundgeschmacksarten gleichzeitig geprüft werden. Für den Geschmackstest wurden Lösungen von Saccharose pro anal. für süß, Natriumchlorid pro anal. für salzig, Citronensäuremonohydrat pro anal. für sauer und Chininhydrochloridmonohydrat pro anal. für bitter verwendet. Die Verdünnungen wurden so hergestellt, daß nach Herstellung der höchsten Konzentrationsstufe jeweils fünfmal auf das doppelte Volumen verdünnt wurde. Es ergaben sich folgende Konzentrationen:

für Saccharose:	35,052 - 1,095 g/l (124 - 3,2 mmol);
für Kochsalz:	5,984 - 0,187 g/l (124 - 3,2 mmol);
für Citronensäure:	2,459 - 0,077 g/l (12,8 - 0,4 mmol),
eingewogen als Citronensäuremonohydrat	(2,689 - 0,084 g/l);
für Chinin:	6,644 - 0,208 mg/l (20,48 - 0,64 mol),
eingewogen als Chininhydrochloridmonohydrat	(8,129 - 0,254 g/l).

Die Temperatur der Flüssigkeiten beim Test betrug 22 °C.

Da die Intensität des Geschmackseindrucks einer Verbindung von der Anzahl der geschmacksaktiven Zentren, also der Zahl der Moleküle abhängt, wird neben der Konzentrationsangabe die Molarität der verwendeten Lösungen angegeben. Beim Vergleich der gefundenen Schwellenwerte für Saccharose und Kochsalz zeigt sich nämlich, daß die Konzentrationen in g/l zwar verschieden, die Molaritäten jedoch gleich sind.

Bemerkenswert ist die Veränderung der Geschmacksschwellenwerte und der Beurteilungsquotienten der Prüfer A, B und C im Verlauf eines Jahres (Prüfer D trat erst später in die Degustationsgruppe ein). Tabelle 9 gibt die entsprechenden Werte wieder, die genau ein Jahr vor Aufstellung von Tabelle 8 bei den zu diesem Zeitpunkt noch relativ unerfahrenen Prüfern ermittelt wurden.

Tabelle 9 Geschmacksschwellenwerte und Beurteilungsquotienten ungeschulter Prüfer

Prüfer	Schwellenwerte in mmol/l für:				BQ
	<u>süß</u> (Saccharose)	<u>salzig</u> (Kochsalz)	<u>sauer</u> (Citronensäure)	<u>bitter</u> (Chinin)	
A	25,6	102,4	3,2	0,00064	15,85
B	25,6	12,8	1,6	0,00512	19,02
C	25,6	51,2	1,6	0,01024	8,00

Beim Vergleich von Tabelle 8 und 9 fällt auf, daß bei den Prüfern A und B parallel zur Verbesserung ihrer Leistungen, gemessen am Beurteilungsquotienten BQ auch eine Senkung der Geschmacksschwellenwerte bei süß, salzig, sauer und bitter (nur bei B) zu beobachten war, während der schwache Prüfer C, der aufgrund seines Beurteilungsquotienten auch nach einem Jahr noch unter der Ausschlußgrenze liegt, keine signifikante Senkung der Schwellenwerte zeigte.

Die Empfindlichkeit gegenüber den vier Geschmacksarten sollte in Übereinstimmung mit anderen Autoren (25, 41, 64, 71 - 73) nicht überbewertet werden. Zur ersten Auswahl von Prüfern aus einer größeren Personengruppe können jedoch diese Schwellenwerte durchaus herangezogen werden, um geschmacksblinde oder solche Personen von vornherein auszuschließen, deren Werte bei allen oder auch nur bei einer Geschmacksrichtung extrem hoch liegen.

- a) BRÜMMER (70)
- b) PFAFFMANN, zit. nach AMERINE et al. (25)
- c) KOUWENHOVEN (48)
- d) COOPER et al., zit. nach KOUWENHOVEN (48)
- e) BERG et al., zit. nach AMERINE et al. (25)
- f) TILGNER und BARYLKO-PIKIELMA, zit. nach AMERINE et al. (25)
- g) MOSEL und KANTROWITZ, zit. nach AMERINE et al. (25)

Die von uns ermittelten Werte liegen im unteren Bereich der entsprechenden Literaturangaben. Es ist jedoch bei der Interpretation der Ergebnisse zu berücksichtigen, daß bei der Ermittlung der Schwellenwerte die Methodik der Verkostung, die Konzentrationsstufen der vorgelegten Geschmacksproben und die Auswertung der Ergebnisse bei den einzelnen Autoren verschieden gehandhabt wurde. Während die Schwankungsbreiten für süß, sauer und salzig relativ gering sind, finden sich bei bitter deutliche Unterschiede. Ein Zusammenhang zwischen Rauchgewohnheiten und Schwellenwerten konnte nicht festgestellt werden, jedoch ist die untersuchte Zahl von 21 Probanden für eine gesicherte Aussage zu gering.

Die Geschmacksschwellenwerte der Prüfpersonen A, B, C und D sind, zusammen mit den Beurteilungsquotienten BQ in Tab. 8 zusammengestellt.

Tabelle 8 Geschmacksschwellenwerte und Beurteilungsquotienten für vier sensorische Testpersonen

Prüfer	Schwellenwerte in mmol/l für:				BQ
	<u>süß</u> (Saccharose)	<u>salzig</u> (Kochsalz)	<u>sauer</u> (Citronensäure)	<u>bitter</u> (Chinin)	
A	12,8	6,4	0,8	0,00064	22,6
B	6,4	6,4	0,8	0,00064	24,8
C	12,8	25,6	1,6	0,01024	12,1
D	6,4	6,4	0,8	0,01024	10,4

Sprachliche Grundlagen zur Ermittlung geeigneter Termini finden sich bei WAGNER (78), der insgesamt 280 sensorische Ausdrücke in acht Gruppen klassifiziert. Die erreichbaren Höchstpunktzahlen werden von den verschiedenen Autoren für die einzelnen Bewertungsschemata in verschiedener Höhe angegeben. Es werden 0 - 10 (40, 49, 66, 76), 1 - 9 (74) oder 0 - 5 (79 - 81) Punkte umfassende Bewertungsskalen beschrieben. Bekannt wurde das von PAULUS et al. (74, 83) entwickelte sogenannte Karlsruher Bewertungsschema, ein spezifisch erläuterndes Notenschema. Für die DLG-Qualitätsprüfungen wird seit Beginn des Jahres 1971 das von VOSS (79 - 81) vorgeschlagene 5-Punkte-Schema eingesetzt, welches in ähnlicher Form bereits seit längerer Zeit in skandinavischen Ländern eingesetzt wird. Dieses einfache Schema löste das bis dahin bei DLG-Prüfungen verwendete 20-Punkte-Schema ab.

Das 5-Punkte-Schema als Beispiel eines allgemein erläuternden Notenschemas:

5 Punkte: sehr gut, hervorragende Eigenschaften

4 Punkte: gut, gute Eigenschaften

3 Punkte: befriedigend, leichte Mängel

2 Punkte: ausreichend, deutliche Mängel

1 Punkt : mangelhaft, starke Mängel

0 Punkte: ungenügend, sehr starke Mängel

Für die einzelnen, zu beurteilenden Produkte werden Art und Bewertung der verschiedenen möglichen Fehler erläutert.

Weitere Methoden zur Erfassung der Qualität oder zur quantitativen Bestimmung sensorischer Unterschiede sind qualitätsbeschreibende Methoden, unter denen besonders die von CAIRNCROSS und SJOLSTRÖM entwickelten Profil-Methode (40, 41, 72, 82) hervorzuheben ist. Die Profil-Methode beschreibt die charakteristischen Aromakomponenten des Prüfgutes in der Reihenfolge ihrer Wahrnehmung und deren Intensität, sowie die Amplitude des gesamten Aroma-Eindrucks. Das Ergebnis wird in einer graphischen Darstellung niedergelegt.

Mit Hilfe der aufgezeigten Methodik ist eine objektive Beurteilung der Prüfer und ein Vergleich der Fähigkeiten der Mitglieder einer Prüfergruppe möglich, wenn eine genügende Zahl an Ergebnissen (mindestens 50) aus Prüfungen unterschiedlichen Schwierigkeitsgrades mit dem Tetraden-Test vorliegt. Die Methode kann auch zur laufenden Überprüfung der Zuverlässigkeit des einzelnen Prüfers ohne dessen Wissen herangezogen werden. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit, durch Nichtberücksichtigung von Prüfungsergebnissen disqualifizierter Prüfpersonen Ergebnisse aus Unterschiedsprüfungen mit dem Tetraden-Test nachträglich zu bereinigen.

9. Sensorische Qualitätsprüfungen

Während bei Unterschiedsprüfungen die Frage gestellt wird, ob zwischen zwei Produkten eine sensorisch feststellbare Differenz besteht, werden bei einer Qualitätsbeurteilung Produkte aufgrund ihrer sensorischen Merkmale, meist in Relation zu einem fiktiven oder realen Standard, in einem Bewertungssystem festgelegt. Das Ergebnis einer Qualitätsprüfung ist in den meisten Fällen ein zahlenmäßig festgelegter Qualitätsgrad. Eine Qualitätsprüfung kann auch so aufgefaßt werden, daß dabei die Stärke eines sensorischen Unterschiedes von einem vorgegebenen Standard in einen mathematisch faßbaren Zahlenwert umgesetzt wird.

Ein objektives Beurteilungsschema, mit dessen Hilfe subjektiv empfundene sensorische Eigenschaften in Maßzahlen umgesetzt werden können, ist normalerweise so aufgebaut, daß die zahlenmäßige Bewertung mit der Qualität ansteigt. Der subjektiv empfundene Qualitätsunterschied von Notenstufe zu Notenstufe muß jeweils gleich sein (45, 66, 74 - 76). Erst bei Erfüllung dieser Bedingung ist es möglich, die erhaltenen Zahlenwerte wie mathematische Größen zu behandeln. In den meisten Fällen werden Beurteilungsskalen eingesetzt, die mit Null oder Eins beginnen. Jede Bewertungsstufe muß dabei einer genau definierten sensorischen Empfindung entsprechen (42, 77). Das Notenschema kann als „allgemein erläuterndes“ Notenschema aufgebaut sein, d.h. es besteht aus einer Zahlenreihe, deren einzelne Stufen mit allgemeinen Prädikaten erläutert werden, oder als „spezifisch erläuterndes Notenschema“ wobei die einzelnen Notenstufen durch Produkt-spezifische Adjektive erläutert werden.

Ein Beispiel für die mit dieser Methodik erzielten Ergebnisse ist in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10

Bewertung des Geschmacks eines Gemüse-Breies
anhand eines 0 - 5 Punkte umfassenden spezifisch
erläuternden Notenschemas

Prüfer	y	x	d	Hierbei ist: -----
1	4	2	2	y = Bewertungsnote für den blinden Standard
2	4	2	2	
3	4	1	3	
4	3	2	1	x = Bewertungsnote für die Analysen-Probe
5	4	2	2	
6	3	1	2	
7	3	1	2	d = Differenz zwischen y und x
8	4	2	2	
9	3	2	1	
10	2	2	0	
11	4	2	2	

Die Auswertung ergab einen t-Wert von 7,32 ***, der sensorische Geschmacksunterschied zwischen den beiden Proben war also gesichert.

Bei längerer Anwendung dieser Prüf-Methodik zeigten sich jedoch verschiedene Nachteile:

- 1) Prüfer, die die gemeinsam zu bewertende Standard-Probe aus persönlichen Gründen ablehnen, stehen bei der Diskussion im Gegensatz zu denjenigen, die die Probe akzeptieren.
- 2) Wird das System des „blinden Standards“ öfter wiederholt, so wird dies von einem Teil der Prüfer bemerkt. Als Folge davon wird der blinde Standard nicht mehr objektiv wie die Analysen-Proben beurteilt, sondern so, wie der offene Standard zu Beginn der Prüfung.

Eine mathematische Auswertung der Ergebnisse ist hierbei nicht ohne weiteres möglich.

Als besonders Verfahren sei noch die

Verdünnungsmethode (42, 50) angeführt, bei der durch Mischen der abweichenden Probe mit der Standard-Probe die geringste Menge an Prüfgut festgestellt wird, die noch sensorisch wahrnehmbar ist. Der ebenfalls von TILGNER (42) entwickelte Verdünnungs-Index ermöglicht es, durch sukzessive Verdünnung des Prüfgutes die einzelnen Geschmacks- und Aromakomponenten „herauszufiltern“.

10. Versuche zur Anwendung eines Hilfsstandards als interne Standard-Probe

Zur Objektivierung des Prüfungsablaufes bei Qualitätsprüfungen werden sensorische Standards als Bezugsproben empfohlen (42, 45, 49, 64, 65, 73, 77, 83). Steht kein sensorischer Standard zur Verfügung, so kann eine der zu bewertenden Proben als Hilfsstandard eingesetzt werden, indem diese Probe vor Beginn der Prüfung in gemeinsamer Diskussion besprochen und mit einer Wertung versehen wird (45, 49, 66, 73, 83). Der Hilfsstandard wird dann im Laufe der Prüfung anonym als „Blind-Standard“ wiederholt.

Bei früheren eigenen Untersuchungen, wobei es u. a. um die Beurteilung von Säuglingsnahrungen auf Gemüse-Basis und von Produkten der Erwachsenen-Diätetik ging, wurde die Bewertung mit Hilfe von Produkt-spezifisch erläuternden Noten-Schemata durchgeführt. In Anlehnung an die von HARRISON und ELDER (49) durchgeführten Versuche wurde dabei bei jeder Prüfung ein Produkt als Hilfsstandard ausgewählt und in gemeinsamer Diskussion aller Prüfer beurteilt. Dieser Hilfsstandard wurde im Verlaufe der Prüfung, ohne Wissen der Prüfer, als Analysenprobe noch einmal gegeben. Sinn des blinden Standards sollte es sein, die Bewertungsunterschiede für ein Produkt innerhalb der Prüfergruppe, die durch individuelle Bewertungen der einzelnen Prüfer zustandekommen, dadurch zu verringern, daß die einzelnen Bewertungen auf die individuellen Bewertungen des Blind-Standards bezogen wurden. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte nach dem t-Test für abhängige Variable (58).

Bei allen Produkten handelte es sich um Trockenprodukte, die durch Einrühren in eine vorgeschriebene Wassermenge verzehrsfertig werden. Bei der Verpackung der Produkte handelte es sich um

- a) eine Aluminium-Papier-Polyäthylen-Verbundfolie
- b) ein Polyäthylen-beschichtetes Natronpapier (90 g/m^2)

Die Produkte wurden zu je 300 g in Beutel der beiden Verpackungstypen abgefüllt, eingeschweißt und mit einem Umkarton (Faltschachtel) versehen. Die Proben wurden dann unterschiedlichen Lagerbedingungen unterworfen, nämlich

- Tiefkühlung ($- 28^\circ \text{C}$)
- akzelerierte Lagerbedingungen ($5^\circ \text{C}/90\% \text{ rel. Luftfeuchte}$ und $40^\circ \text{C}/50\% \text{ rel. Luftfeuchte}$ in 12-stündigem Wechsel)

12. Modifizierung des DLG-Schemas zur Beurteilung gelagerter Proben

Die sensorischen Untersuchungen zur Feststellung, von welchem Zeitpunkt ab erste Unterschiede zwischen den bei akzelerierten Bedingungen gelagerten und den tiefgefrorenen Produkten (Standard-Proben) auftraten, erfolgte mit dem Tetraden-Test. Diese sensorischen Veränderungen, die sich mit fortschreitender Lagerzeit weiterentwickelten, wurden über einen Zeitraum von vier Monaten beobachtet. Um die Stärke dieser Abweichungen zu erfassen, wurde in Anlehnung an das DLG-Schema ein ebenfalls 0 - 5 Punkte umfassendes Beurteilungsschema aufgestellt, mit dessen Hilfe die Qualitätsveränderungen der gelagerten Produkte im Vergleich zu einer unveränderten Standard-Probe festgehalten wurden.

Dieses Schema basiert auf dem DLG-Schema, jedoch erhielten die Bewertungsnoten eine abweichende Abstufung, einmal dadurch, daß die Erläuterungen auf die speziellen sensorischen Abweichungen gelagerter Trockenprodukte abgestellt wurden und zum anderen durch Veränderung des Aufbaus. So erhielt ein Produkt mit leichten Mängel (z.B. leichtem Fremdgeschmack) nicht 3, sondern nur 2 Punkte.

- 3) Ein Prüfer, der sich in der Strenge der Bewertung stark von den übrigen Mitgliedern der Prüfergruppe unterscheidet, wird, wenn er den blinden Standard als solchen erkennt, diesen (wider seine Überzeugung) so beurteilen wie den offenen Standard oder ihm eine individuelle Bewertung geben.

Der blinde Standard hat somit, sobald er erkannt ist, seine Funktion verloren und verfälscht das Prüfungsergebnis, anstatt es zu objektivieren.

Aus diesen Gründen wandten wir für die Untersuchungen, mit denen sich die vorliegende Arbeit beschäftigt, ein modifiziertes Verfahren an.

11. Beschreibung der untersuchten Proben

Die Untersuchungen befaßten sich im Rahmen von Haltbarkeitsversuchen mit dem Erfassen sensorischer Veränderungen, die bei der Lagerung unter extremen Bedingungen auftreten.

Die Lagerbedingungen wurden so gewählt, daß hierbei auftretende Geschmacksveränderungen in einem relativ kurzen Beobachtungszeitraum erfaßt werden konnten, die sich sonst über Jahre erstreckt hätten.

Ziel dieser Untersuchungen sollte es sein, meßbare Daten über das Lagerverhalten verschieden zusammengesetzter Produkte in zwei unterschiedlichen Verpackungen zu gewinnen. Bei den untersuchten Produkten handelte es sich um im Handel erhältliche Säuglingsnährmittel, die von der Firma Milupa AG, Friedrichsdorf, hergestellt werden. Im einzelnen handelt es sich um folgende Produkte:

Nr. / Produkt	Zusammensetzung :			
	Eiweiß	Fett	Kohlehydrate	Mineralstoffe
1. Adaptierte Säuglingsmilch	13,5 %	28,3 %	55,1 %	1,9 %
2. Teiladaptierte Säuglingsmilch	12,5 %	23,5 %	59,5 %	2,2 %
3. Säuglingsmilch auf 2/3-Milchbasis	15,0 %	14,0 %	65,0 %	2,7 %
4. wie Nr. 3 mit Zusatz von Honig	13,0 %	13,0 %	66,5 %	3,0 %
5. 2/3-Milchbrei m. versch. Früchten	12,6 %	9,0 %	73,0 %	2,5 %
6. 2/3-Milchbrei m. Zwieback	13,0 %	9,0 %	71,8 %	2,6 %
7. Vollmilchbrei m. Schokolade	15,0 %	11,5 %	68,5 %	2,9 %
8. 2/3-Milch-Grießbrei	13,7 %	9,2 %	71,0 %	2,3 %
9. 2/3-Milchbrei mit Orangen	13,5 %	9,0 %	72,4 %	2,5 %

Die Bewertungsstufe 2 Punkte = „ausreichend, deutliche Mängel“ erscheint ebenfalls unzweckmäßig, da einem Produkt mit deutlichen Mängeln keine ausreichende Qualität mehr zugebilligt werden sollte. Der Aufbau des modifizierten DLG-Schemas unterscheidet sich vom DLG-Schema dadurch, daß die Bewertungsstufen 5, 4 und 3 den Produkten zugebilligt werden sollen, die noch keine Veränderungen im Sinne von Mängeln gegenüber dem vorgegebenen Standard aufweisen, sondern sich von diesem durch die Intensität des sensorischen Eindrucks unterscheiden. Die Stufen 2, 1 und 0 Punkte sind Produkten vorbehalten, die sensorisch vom Standardprodukt dadurch abweichen, daß hierbei mehr oder weniger starke unerwünschte Veränderungen feststellbar sind. Auf diese Weise verläuft eine gedachte Symmetrie-Ebene zwischen 2 und 3 Punkten durch die Mitte des Schemas.

Beim DLG-Schema dagegen ist die Trennlinie zwischen tolerierbaren und abzulehnenden Proben offensichtlich zum unteren Bereich der Skala hin verschoben. Durch diese Verschiebung kommt es zu einer Spreizung des oberen und zu einer Zusammendrängung des unteren Skalenbereichs. Als Folge davon sind die Abstände zwischen den einzelnen, aufeinanderfolgenden Notenstufen nicht gleichmäßig über die gesamte Skala verteilt. Sollen die Zahlenwerte einer Meßskala wie mathematische Größen behandelt werden, so ist es aber Voraussetzung, daß die Abstände zwischen zwei benachbarten Skalenstufen über die ganze Skalenbreite gleich sind. Da die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Produkte über den gesamten Bereich der Notenskala beobachtet und die Ergebnisse statistisch ausgewertet werden sollten, erschien die vorstehend beschriebene Änderung notwendig.

PUNKTE - SCHEMA
zur Beurteilung von Qualitätsveränderungen gelagerter
Proben im Vergleich zu einem vorgegebenen Standard.

PUNKTE	GERUCH	GESCHMACK	FARBE	KONSISTENZ
5	volle Übereinstimmung identisch mit dem Standard	volle Übereinstimmung identisch mit dem Standard	volle Übereinstimmung identisch mit dem Standard	volle Übereinstimmung identisch mit dem Standard
4	gute Übereinstimmung mit dem Standard	gute Übereinstimmung mit dem Standard	gute Übereinstimmung mit dem Standard	gute Übereinstimmung mit dem Standard
3	befriedigende Übereinstimmung mit dem Standard	befriedigende Übereinstimmung mit dem Standard	befriedigende Übereinstimmung mit dem Standard	befriedigende Übereinstimmung mit dem Standard
2	leichter Fremdgeruch (z. B. leicht ranzig, ranzig oder karamel- artig)	leichter Fremdgeschmack (z. B. leicht ranzig, ranzig oder karamel- artig)	leichte Verfärbung (z. B. leicht nachge- dunkelt, leicht bräun- lich verfärbt)	leichte Konsistenzfehler (z. B. leicht sandig klumpig, schlüpfrig)
1	starker Fremdgeruch (z. B. stark ranzig, ranzig oder karamel- artig)	starker Fremdgeschmack (z. B. stark ranzig, ranzig oder karamel- artig)	starke Verfärbung (z. B. stark gebräunt, fleckig)	starke Konsistenzfehler (z. B. stark sandig, klumpig, schlüpfrig)
0	völlig veränderter Geruch	völlig veränderter Geschmack	völlig veränderte Farbe	völlig veränderte Konsistenz

13. Durchführungen der Prüfungen

Zu Beginn der Prüfung werden die Prüfer kurz über Prüfgut und Zweck der Prüfung informiert. Die Prüfergruppe besteht aus acht geschulten Prüfpersonen. Jeder Prüfer erhält nun den mit „Null“ bezeichneten offenen Standard und anschließend die mit „eins“ bis „neun“ verschlüsselten Analysen-Proben in beliebiger Reihenfolge. Die Prüfer beurteilen die Proben anhand des vorliegenden Schemas im Vergleich zur Standard-Probe und erhalten ihre Ergebnisse schriftlich fest (Tab. 11). Absprachen der Prüfer während der Prüfung sind untersagt. Die Beurteilung von Geruch, Geschmack und Konsistenz erfolgt, um optische Beeinflussung auszuschließen, bei Natrium-Dampf-Licht. Die Beurteilung der Farbe erfolgt anschließend nach ca. 5 Minuten bei Tageslicht. Die vorher festgelegten Bewertungen für Geruch, Geschmack und Konsistenz dürfen dabei nicht mehr verändert werden. Als Tageszeit für die Prüfung hat sich die Zeit vor dem Mittagessen bewährt, bezüglich Proben-temperatur und Proben-gefäßen gilt das bei der Prüfungsdurchführung beim Tetraden-Test gesagte.

Die Anwendung des Beurteilungs-Schemas in Verbindung mit dem offenen und internen Standard:

Die Prüfungen für jedes einzelne Produkt erfolgten in jeweils einem Durchgang. Zu diesem Zweck wurden die in Abständen von 30 Tagen aus der Klimazelle entnommenen Proben bis zum Zeitpunkt ihrer sensorischen Beurteilung bei -28°C gelagert und in einer Prüfung beurteilt. Als offener Standard und Bezugsprobe diente jeweils die unmittelbar nach der Produktion tiefgefrorene Referenzprobe.

Abweichend von anderen Verfahren, wobei dem offenen Standard in gemeinsamer Diskussion eine Bewertung zugemessen wird, wurde vor Beginn der Prüfung festgelegt, daß der offene Standard in allen Prüfkriterien mit der Höchstpunktzahl zu bewerten ist, und daß die folgenden Analysenproben mit dem offenen Standard als Bezugsprobe vergleichend zu beurteilen sind.

Dieser Standard wurde im Verlauf der Prüfung - anonym als interner Standard - noch einmal zur Beurteilung vorgelegt.

Auf diese Weise konnte auch für diese Probe (die gleichzeitig offener und interner Standard ist) eine objektive Bewertung erhalten werden.

Erkennt ein Prüfer im Verlauf der Prüfung diesen internen Standard als den vorgestellten offenen Standard, so bewertet er ihn mit der Höchstpunktzahl. Erkennt er ihn nicht, so muß er ihn dennoch, aufgrund des Notenschemas, mit der Höchstpunktzahl oder wenigstens mit sehr hoher Punktzahl bewerten.

Auf diese Weise wird von einer persönlichen Bevorzugung oder Abneigung gegen einzelne Produkte völlig abstrahiert,

Da sich die Lagerzeit über vier Monate erstreckte, und jedes Produkt in zwei verschiedenen Verpackungsarten gelagert wurde, ergaben sich für jede Prüfung 10 Proben:

Offener Standard, zwei mal vier Proben, interner Standard.

B. Chemische Methoden

Parallel zu den Prüfungen, die die sensorischen Veränderungen im Verlaufe der Lagerung erfaßten, wurde eine Reihe von chemischen Untersuchungen durchgeführt mit dem Ziel, Beziehungen zwischen dem sensorischen und dem chemischen Befund zu suchen.

1. Bestimmung der freien Aminosäuren

Den freien Aminosäuren kommt, obwohl sie an sich in der in Frage kommenden Konzentration an der Entstehung des Geschmacksbildes uneteiligt sind, insofern Bedeutung zu, als sie im Verlaufe der MAILLARD-Reaktion mit Zuckern zu N-Glykosiden reagieren, die sich dann zu einer ganzen Gruppe verschiedener chemischer Substanzen umlagern (84).

Die gebildeten Produkte reagieren wiederum mit Aminosäuren und bilden dann u. a. braungefärbte MAILLARD-Produkte. Andererseits können Aminosäuren durch die - bei der Einwirkung von Temperatur oder Säuren aus Zuckern gebildeten - α - β -Diketone auf dem Wege des Strecker-Abbaus durch Decarboxylierung und Desaminierung in geruchsaktive Aldehyde umgewandelt werden.

Zur Extraktion der freien Aminosäuren aus dem Untersuchungsmaterial wurde ein Äthanol-Wasser-Gemisch eingesetzt. Eine vollständige Extraktion ist nach WÜNSCH (85) erst nach elfmaliger Extraktion mit 70 %igem Äthanol möglich. Um das Verfahren abzukürzen, wurde nur einmal extrahiert und über die prozentuale Ausbeute, die anhand zugegebener Aminosäuren errechnet wurde, der tatsächliche Gehalt ermittelt.

Tabelle 11

Prüfbogen zur Qualitätsbeurteilung nach dem modifizierten 0 - 5-Punkte-Schema (Beispiel).

QUALITÄTSBEURTEILUNGSBOGEN

Produkt: Zwieback-Brei Name: N.

-Punkte-

Probe Nr.	Geruch	Geschmack	Farbe	Konsistenz
1	4	2	5	4
2	2	0	2	2
3	0	0	1	2
4	5	5	5	5
5	4	2	2	5
6	5	2	2	4
7	5	5	4	5
8	5	5	3	5
9	5	2	2	4

Im vorliegenden Beispiel war Probe Nr. 4 der interne Standard. Die anderen Proben waren wie folgt verschlüsselt:

Probe-Nr. Wechselklima Verpackung:

8	30 Tage	Aluminium-Papier- Polyäthylen-Verbundfolie
6	60 Tage	
9	90 Tage	
5	120 Tage	
7	30 Tage	Polyäthylen-beschichtetes Natronpapier
4	60 Tage	
2	90 Tage	
3	120 Tage	

2. Bestimmung von Hydroxymethylfurfural (HMF)

Hydroxymethylfurfural gilt als eines der ersten Reaktionsprodukte, die in der Initialphase der MAILLARD-Reaktion entstehen. Die HMF-Bildung ist abhängig vom pH-Wert, vom Wassergehalt des Produktes, von der Temperatur und der Dauer der Erhitzung. Die Bildung von HMF wurde u. a. in Fruchtpulvern, Fruchtsäften (86 - 88) und in Milchprodukten (89 - 91) nachgewiesen und dient zur Prüfung auf eine stattgefundene Erhitzung bei Honig und Fruchtsäften. HMF wird aus Hexosen durch katalytische Wirkung von H^+ Ionen, OH^- Ionen oder Aminen gebildet (Abb. 1).

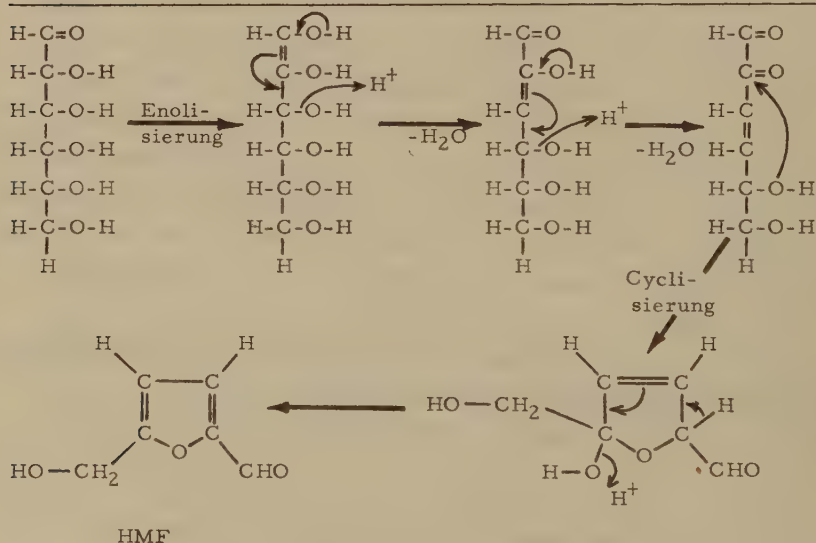


Abbildung 1

Bildung von Hydroxymethylfurfural aus
Hexosen unter Säure-Katalyse

Arbeitsweise:

10,00 g Probe werden mit 100 ml Äthanol (50 % Äthanol, 50 % Aqua dest. v/v) eine Stunde am Sieden gehalten (Rückfluß). Die Suspension wird 10 Minuten bei 13000 U/min zentrifugiert und anschließend filtriert. 60,0 ml des Filtrats werden am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt und mit 10,0 ml Natriumcitrat-HCl-Puffer vom pH 2,0¹ aufgenommen. Anschließend werden zur Ausfällung löslicher Eiweiß-Fractionen 2,0 ml einer 21 %igen 5-Sulfosalizylsäure-Lösung zugegeben.

Nach 12 Stunden bei 4 °C wird 10 min bei 13000 U/min zentrifugiert und 80 µl des klaren Überstandes der Aminosäure-Analyse unterworfen. Die Auftrennung erfolgt auf einem Technicon Amino Acid Autoanalyzer TSM1. Zur Integration der Peak-Flächen und zur Umrechnung auf den Gehalt wurde ein mit dem Auto-Analyzer gekoppelter Computing Integrator (System AA der Fa. Autolab) eingesetzt.

Pro Gramm Substanz wurden 65,6 µg Norleucin, einer Aminosäure, die in der Natur nicht vorkommt, zugesetzt. Es wurden im Durchschnitt 57,30 µg/g wiedergefunden, was einer Wiederfindungsrate von 87,35 % entspricht. Die vom Integrator ermittelten Werte wurden daher durch 0,87 dividiert. Dieses Verfahren erschien hinreichend genau, da in dieser Arbeit die mit ein und derselben Methode gefundenen Aminosäuren-Gehalte verglichen werden sollen.

¹ 21,0 g Citronensäuremonohydrat + 8,25 g NaOH werden ad 1000 ml gelöst und mit HCl auf pH 2,0 eingestellt.

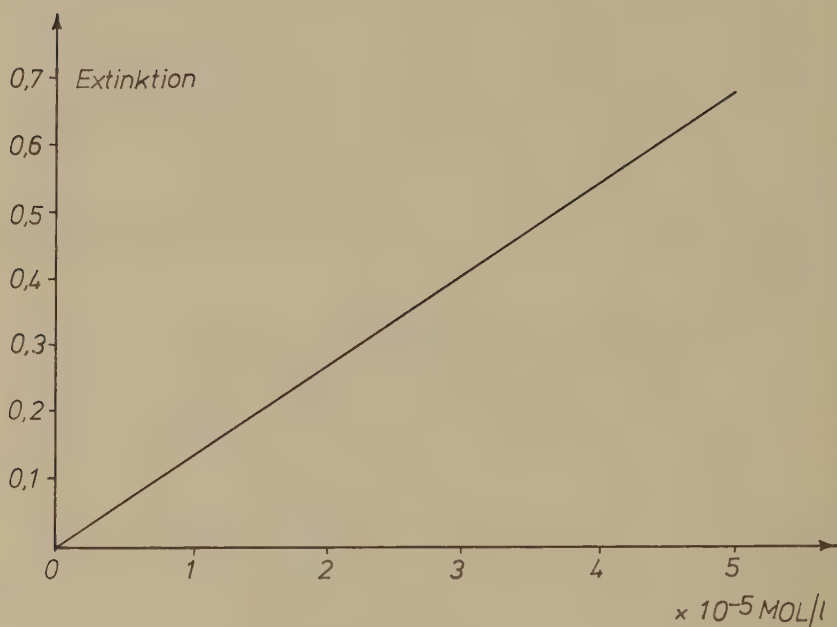


Abbildung 2

Eichkurve zur Bestimmung von Hydroxymethylfurfural.
Extinktionsmessung bei 443 nm gegen dest. Wasser.

Die einzelnen Konzentrationsstufen wurden durch entsprechende Verdünnung einer wässrigen Lösung von kristallinem HMF hergestellt.

Der Eigengeschmack von HMF in höheren Konzentrationen wird mit adstringierend - bitter angegeben und trägt bei einigen zu lange gelagerten oder überhitzten Lebensmitteln zur Geschmacksveränderung bei (92).

Zur Bestimmung von HMF in der vorliegenden Arbeit wurde die von KEENEY und BASSETTE (90) beschriebene Methode zur Erfassung des freien HMF modifiziert.

Arbeitsweise:

Etwa 500 mg (genau eingewogen) der in der Reibschale fein zerriebenen Probe werden in ein Zentrifugenglas gegeben. Nach Zugabe von 10,0 ml dest. Wasser und 5,0 ml 0,3 n-Oxalsäure wird der Ansatz nach Umschütteln eine Stunde bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach werden 5,0 ml 40 %ige Trichloressigsäure zugegeben, nach Umschütteln wird 10 min bei 15000 U/min zentrifugiert und durch ein Hartfilter filtriert. 4,0 ml des Filtrats werden mit 1,0 ml 0,05 n-Thiobarbitursäure versetzt und 30 - 40 min im Wasserbad bei 40 °C belassen. Die Messung erfolgt nach Abkühlung auf Raumtemperatur bei 443 nm am Spektralphotometer Zeiss PMQ II gegen einen Blindwert, der statt Thiobarbitursäure Wasser enthält.

Die Berechnung erfolgt anhand einer mit kristallinem HMF (Fa. Schuchard, München) aufgenommenen Eichkurve (Abb. 2).

a) Arbeitsvorschrift für die Fettextraktion

Die Extraktion des Gesamt-Fettes erfolgt nach Durchfeuchten der Probe mit Äthanol (zum Aufschließen der Protein-Fett-Komplexe) durch 6-stündige Extraktion (Petroläther, Siedebereich 40 - 60 °C) an der Soxhlet-Apparatur. Nach Trocknen des Extraktes mit wasserfreiem Natriumsulfat wird am Rotationsverdampfer das Lösungsmittel entfernt.

b) Umesterung der Triglyceride

Die Umesterung erfolgte nach der Vorschrift der NORME DI GRASSI DERIVATI (94). Dazu werden 1 ml Fett und 0,3 ml Umesterungsgemisch¹ in eine 2 ml-Ampulle eingeschmolzen und 12 - 14 Std. bei 105 °C im Trockenschrank aufbewahrt. Nach dieser Zeit haben sich, optisch gut erkennbar, die leichtbeweglichen Methyl-ester gebildet, die eine geringe Menge Glycerin und unverbrauchtes Umesterungsgemisch überlagern. Für die gaschromatographische Analyse werden 0,1 µl der Ester-Phase eingesetzt.

c) Gewinnung der freien Fettsäuren (FFS)

Die Isolierung der FFS erfolgte aus dem extrahierten Gesamtfett durch säulenchromatographische Abtrennung. Das dazu angewandte Verfahren basiert auf der bei SEHER (95) beschriebenen Methode.

Arbeitsweise: 5 g Fett werden in 25 ml Diäthyläther gelöst und als interner Standard 1,25 mg Önanthensäure und 10 mg Margarinsäure zugesetzt. Die Lösung wird dann auf eine Chromatographie-Säule (3,0 cm x 30 cm mit Hahn und G-3-Fritte), die mit einer 3 - 4 cm hohen Schicht Magnesiumoxyd bedeckt ist, gegeben. Die Säule wird nach Einziehen der Lösung mit

¹ Umesterungsgemisch: 3,5 g Zinkchlorid werden im Erlenmeyer vorsichtig geschmolzen. Wenn die Masse fast erkaltet ist, wird unter Schütteln 50 ml wasserfreies Methanol zugegeben. Nach vollständiger Lösung des Zinkchlorids wird 1 g Zinkstaub zugefügt. Das Gemisch wird täglich frisch bereitet und ist vor Gebrauch kräftig aufzuschütteln.

3. Bestimmung der Fettsäuren-Zusammensetzung der Triglyceride und der freien Fettsäuren.

Besonders bei Nahrungsmitteln mit niedrigem Wassergehalt, also Trockenprodukten, spielt der oxydative Fett-Abbau bei der Entwicklung des Aromas eine Rolle. Diese Reaktion, die unter dem Einfluß von Sauerstoff - wobei als Katalysatoren Schwermetalle dienen, die ihre Wertigkeit leicht ändern - abläuft, führt zu verschiedenen, außerordentlich geruchsaktiven Verbindungen (Tab. 12). Für diese autoxydativen Vorgänge sind besonders die ungesättigten Fettsäuren anfällig, da hierbei die intermediär auftretenden Radikale durch die α/β -ständige Doppelbindung resonanzstabilisiert werden. Genaue Angaben über den Reaktionsmechanismus finden sich bei OHLOFF (93).

Tabelle 12

Einige geruchsaktive Aldehyde aus ungesättigten Fettsäuren, nach EICHNER (92)

Fettsäure:	gebildeter Aldehyd:

Ölsäure	Octanal
	2-Undecenal
	2-Decenal
	Nonanal
Linolsäure	Hexanal
	2, 4-Decadienal
	2 - Octenal
Linolensäure	Propanal
	2 - Pentenal
	2, 4 - Heptadienal
	3 - Hexenal
	2, 5 - Octadienal
	2, 4, 7-Decatrienal

Die eigenen Untersuchungen sollten feststellen, ob sich eine Veränderung des Fettsäure-Musters der Triglyceride und der freien Fettsäuren durch Fettsäure-Abbau unter dem Einfluß der Lagerungsdauer nachweisen läßt. Die qualitative und quantitative Bestimmung der Fettsäuren erfolgte nach Methylierung gaschromatographisch.

zugegeben. Anschließend läßt man ca. 1 Stunde bei Raumtemperatur unter gelegentlichem Umschütteln stehen, wobei überschüssiges Diazomethan zerstört wird. Das Endvolumen wird durch schonendes Einengen auf 2 ml gebracht. Zur gaschromatographischen Analyse werden $1,0 \mu\text{l}$ eingesetzt.

e) Gaschromatographische Analyse der Fettsäure-Methylester

Die Untersuchungen wurden an einem Gaschromatographen Typ 1740 der Fa. Varian Aerograph, Darmstadt, unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

Detektor:	2 x Flammenionisationsdetektor			
Trägergas:	Stickstoff, 12,5 ml/min (A28, Dtsch. L'air Liquide)			
Brenngase:	Wasserstoff, 30 ml/min (N57, " " " ")			
	Synthetische Luft	300 ml/min		
	(80 % Stickstoff,	A28	"	"
	20 % Sauerstoff	A40	"	"
Säulentemperatur:				50 - 190 °C
Heizrate:				10 °C / min
Injektortemperatur:				245 °C
Detektortemperatur:				275 °C
Schreibergeschwindigkeit:				15 mm/min
Elektrometerempfindlichkeit:				10^{-11} Amp / mV
Als Trennsäulen wurden Edelstahlsäulen 3,00 m x 1/8" verwendet.				
Stationäre Phase:	Gaschrom Q 60/80 mesh, (Fa. Varian, Darmstadt)			
Trennflüssigkeit:	EGSS - X (Fa. Varian, Darmstadt)			
Belegung:				10 %

Die Identifizierung der einzelnen Methylester erfolgte durch Vergleichssubstanzen (Fa. Serva, Heidelberg). Zur quantitativen Bestimmung wurden die Peakflächen manuell planimetriert, und die Einzelkomponenten als Prozente der Gesamt-Peakfläche angegeben. Zwei typische Fettsäure-Methylester-Chromatogramme sind in Abb. 4 und 5 dargestellt.

insgesamt 50 ml Äther nachgewaschen. Das Eluat wird verworfen. Das Magnesiumoxyd der Säule, welches die FFS gebunden hat, wird mit 10 %iger Schwefelsäure gelöst und in einen 250 ml Scheidetrichter überführt. Nach vollständiger Lösung des Magnesiumoxyds wird dreimal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt. Die gesammelten Äther-Auszüge werden dreimal mit je 150 ml Wasser gewaschen und 12 Stunden über Natriumsulfat getrocknet. Die ätherische Lösung der FFS wird am Rotationsverdampfer (max. 40 °C) auf 1 ml eingeeengt, wobei nach Abdampfen des größten Teils des Lösungsmittels in ein graduiertes Reagenzglas übergeführt wird.

d) Methylierung der freien Fettsäuren, Arbeitsweise

Die Darstellung der Fettsäure-Methylester erfolgt durch Reaktion mit Diazomethan (Abb. 3). Ca. 3 g N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid (Merck Nr. 808406) werden im 250 ml-Kolben in 30 ml Äther gelöst. Der Kolben wird mit einer Destillierbrücke mit Liebigkühler (40 cm Länge) versehen und der Inhalt auf dem Wasserbad (45 °C) zum Sieden gebracht. Aus einem aufgesetzten Tropftrichter läßt man langsam 10 ml 4 %ige äthanolische Natronlauge zufließen. In eisgekühlter Vorlage fängt man die stark gelb gefärbte mittlere Fraktion des Destillates auf.

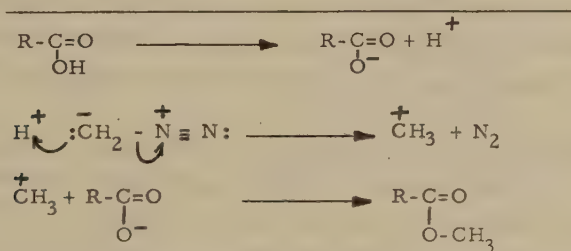


Abbildung 3

Mechanismus der Reaktion von Diazomethan mit Carbonsäuren

Die freien Fettsäuren werden im Reagenzglas vorsichtig und unter leichtem Schütteln mit soviel Diazomethan-Äther-Lösung versetzt, bis bei erneuter Zugabe keine Gasentwicklung mehr auftritt und die gelbe Farbe des Diazomethans bestehen bleibt. Insgesamt werden ca. 1,5 ml Diazomethan-Lösung

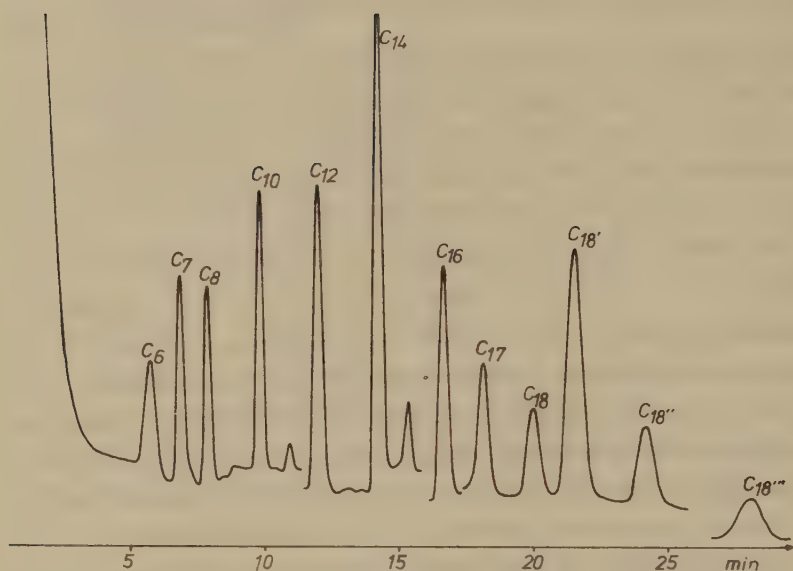


Abbildung 5

Fettsäuremethylester der freien Fettsäuren
einer teiladaptierten Säuglingsmilch

Der Buttersäuremethylester (C_4)-Peak ist durch das Lösungsmittel überdeckt. Die Peaks C_7 und C_{17} sind die Methylester der internen Standards Önanthsäure und Margarinsäure.

Die Faktoren für die Ermittlung der tatsächlichen Peak-Flächen sind:

C_6	-	C_{10}	x	1
C_{12}	-	C_{14}	x	2
C_{16}			x	16
C_{17}	-	$C_{18''}$	x	8
$C_{18'''}$			x	2

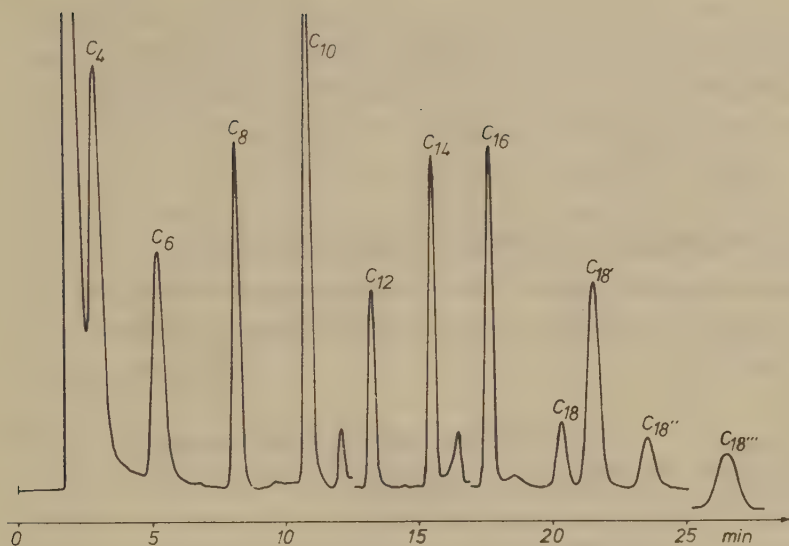


Abbildung 4

Chromatogramm der Fettsäuremethylester
aus den Triglyceriden einer teiladaptierten
Säuglingsmilch

Um sämtliche Fettsäuren trotz unterschiedlicher Gehalte auf einer Abbildung darstellen zu können, wurden die Peaks mit verschiedenen Empfindlichkeitsstufen aufgenommen. Die Faktoren für die Ermittlung der tatsächlichen Größen sind:

C ₄	= Buttersäuremethylester	]	x 1
C ₆	= Capronsäuremethylester		
C ₈	= Caprylsäuremethylester		
C ₁₀	= Caprinsäuremethylester		
C ₁₂	= Laurinsäuremethylester	]	x 8
C ₁₄	= Myristinsäuremethylester		
C ₁₆	= Palmitinsäuremethylester		
C ₁₈	= Stearinsäuremethylester	]	x 32
C _{18'}	= Ölsäuremethylester		
C _{18''}	= Linolsäuremethylester		
C _{18'''}	= Linolensäuremethylester	]	x 4

Aufbau und Funktionsprinzip

Der Aufbau der dazu erforderlichen Apparatur ist in Abb. 6 dargestellt. Der im Dampfentwickler A erzeugte Wasserdampf bringt den Inhalt des Kolben B zum Sieden. Die wasserdampf-flüchtigen Aromastoffe, Wasserdampf und Alkohol kondensieren am Kühler und tropfen in das U-förmige Rohr C.

Der im Kölbchen D entwickelte Pentandampf schlägt sich ebenfalls am Kühler nieder, und das spezifisch leichtere Pentankondensat überlagert das im U-Rohr befindliche Wasser-Alkohol-Gemisch. Das kommunizierende System C ist so bemessen, daß der linke Überlauf höher liegt als der rechte. Das bei der Destillation vom Kühler abfließende Kondensat läuft nach seiner Entmischung wieder zurück, und zwar die mit Aromastoffen angereicherte Pentan-Phase in Kolben D, die aromafreie Wasser-Äthanol-Phase in Kolben B. Durch beständigen Umlauf kommt es zu einer Anreicherung der Wasserdampf-flüchtigen und Pentan-löslichen Aromastoffe in Kölbchen D. Der Übergang der Aromastoffe in die Pentan-Phase ist besonders günstig, da für die Aufnahme von Aromastoffen immer frisch destilliertes Pentan an der Kühleroberfläche zur Verfügung steht. Eine Sättigung des Pentans mit bestimmten Substanzen, die zu einer verminderten Aufnahmefähigkeit führt, kann daher nicht auftreten.

4. Isolierung und gaschromatographische Auftrennung der Aromastoffe

Die Trennung und Untersuchung der Aromaträger in Naturstoffen erfolgt heute größtenteils gaschromatographisch. Dazu ist es erforderlich, die Aromastoffe abzutrennen und von störenden Begleitsubstanzen wie Fetten oder Lipiden zu isolieren. Der erhaltene Extrakt muß schließlich so weit eingeeengt werden, daß sich das erhaltene Konzentrat gaschromatographisch auftrennen und darstellen läßt.

Im wesentlichen werden zwei Techniken der Isolierung angewandt: Lösungsmittel-Extraktion und Destillation. Bei der Lösungsmittel-Extraktion auftretende Schwierigkeiten sind Emulsionsbildung an der Grenzfläche beim Ausschütteln, und gleichzeitige Extraktion von Fetten und anderen lipophilen Substanzen zusammen mit den Aromastoffen. Die Abtrennung dieser Begleitsubstanzen ist mit oft erheblichen analytischen Problemen verbunden. Beim Abtrennen des Lösungsmittels muß mit teilweisem Verlust niedrig siedender Aromakomponenten gerechnet werden. Die bei der Destillation auftretenden Probleme sind ein meist großer analytischer und zeitlicher Aufwand und die Schwierigkeit des Erfassens schwerflüchtiger Substanzen. Außerdem neigen viele - besonders Eiweiß-haltige - Naturstoffe beim Sieden unter vermindertem Druck zu starkem Schäumen.

Zur Erfassung der Aromastoffe der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Produkte wurden verschiedene Verfahren angewandt. Für die Überprüfung der einzelnen Methoden wurden Fruchtsäfte, Homogenisate ganzer Früchte und im Handel erhältliche pulverförmige Fruchtkonzentrate untersucht.

a) Wasserdampfdestillation und gleichzeitige Extraktion und Anreicherung des Destillates

LINKENS und NICKERSON (96) beschreiben eine Methode zur Isolierung von Hopfenölen, die später auch von HASHIMOTO (97) für ähnliche Untersuchungen eingesetzt wurde. Die dazu erforderliche Apparatur wurde weiterentwickelt und zur Isolierung und Anreicherung der wasserdampf-flüchtigen Aromastoffe angewandt.

Arbeitsvorschrift:

In den 1 l fassenden Zweihals-Kolben B werden je nach Gehalt an Aromastoffen 20 - 50 g Probe, 300 ml Wasser, 40 ml Äthanol und 35 g Magnesiumsulfat gegeben. Nach Umschütteln wird der Ansatz 10 min stehen gelassen. In das U-Rohr wird Wasser bis zur Höhe des rechten Überlaufs gefüllt. Im Kölbchen D befinden sich 50 ml Pentan, die durch ein Wasserbad von 46 °C zum Sieden gebracht werden. Gleichzeitig wird durch Einleiten von Wasserdampf aus dem Dampfentwickler A der Inhalt des Zweihalskolbens B zum Sieden gebracht. Die Dauer der Destillation beträgt 60 min. Während der Destillation wurde am Punkt d 34 °C, am Punkt b 91 °C gemessen. Als Destillationsmengen wurden in Teil B ca. 3,9 ml/min, in Teil D ca. 4,0 ml/min ermittelt.

15 Minuten nach Beendigung der Destillation wird das im linken Überlauf des U-Rohrs verbleibende Pentan vorsichtig in Kölbchen D dekantiert. Die vereinigten Pentan-Aroma-Extrakte werden über Natriumsulfat getrocknet und auf der bei DRAHWERT et al. (98) beschriebenen Apparatur auf ein Volumen von 0,5 ml schonend eingeeengt. Für die gaschromatographische Analyse werden 2 µl des Konzentrates eingesetzt.

Da bei dieser Methode auch flüchtige Verunreinigungen aus den Reagentien oder sonstige flüchtige Substanzen wie z.B. Spülmittelreste, Bestandteile aus Gummi-Teilen usw. stark angereichert werden, ergeben diese Bestandteile Störungen im Chromatogramm. Es sind daher folgende Punkte zu beachten:

- 1) Als Entschäumer wird Magnesiumsulfat verwendet, alle getesteten Entschäumer auf organischer Basis ergeben im Chromatogramm störende Peaks.
- 2) Das zur Dampfentwicklung, zum Auflösen bzw. Suspendieren der Probe und zum Füllen des U-Rohrs verwendete Wasser ist entmineralisiert und ausgekocht.

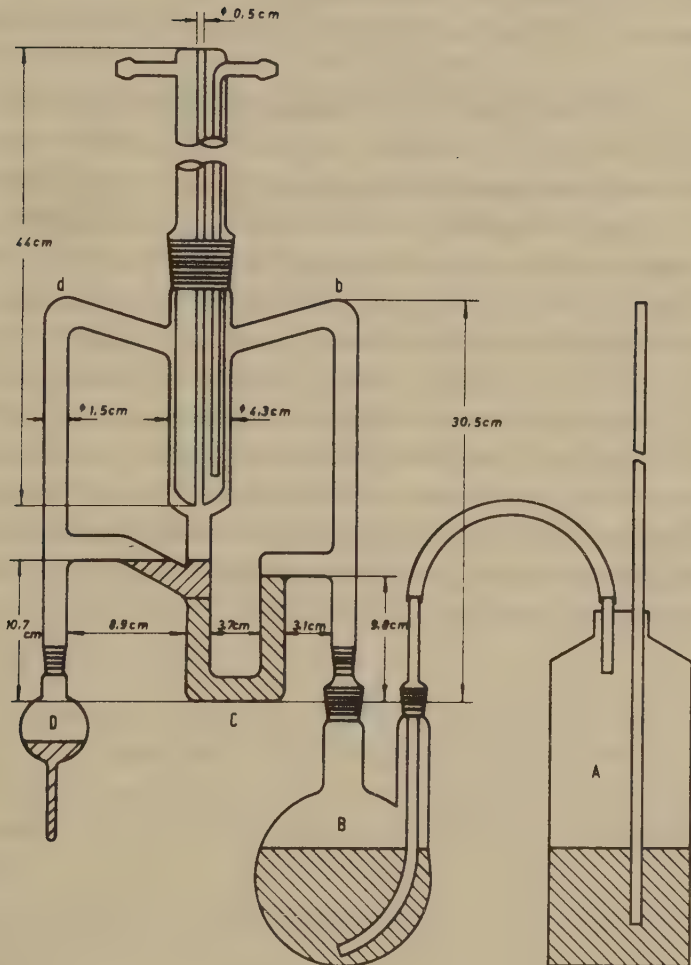


Abbildung 6

Anordnung zur Wasserdampfdestillation und
Anreicherung flüchtiger Aromasubstanzen

- 3) Der Dampfentwickler besteht aus Aluminium, das Überleitungsrohr aus Teflon.
- 4) Die verwendeten Reagentien sind von höchster Reinheit:
Mg SO₄ · 7 H₂O Merck Nr. 5882
Äthanol abs p. A. Merck Nr. 972
n-Pentan Uvasol Merck Nr. 7179
- 5) Die Destillationsapparatur ist öfter durch Ausheizen im Trockenschrank von Spuren flüchtiger Verbindungen zu befreien.
- 6) Anhand eines Reagentien-Blindwertes ist die Anlage regelmäßig zu überprüfen.

b) Kugelmühlenaufschluß und Pentan-Extraktion

Sollen Aroma-Konzentrate von Proben gewonnen werden, die keine Fette oder sonstige störende Begleitsubstanzen enthalten, so kann ein Aromakonzentrat mittels direkter Extraktion gewonnen werden. Dazu werden 20 g Probe zusammen mit 80 ml Pentan Uvasol (Merck Nr. 7179) in eine 350 ml-Kugelmühle gegeben. Zur besseren Zerkleinerung der Probe wird zu den Hartporzellankugeln gereinigter Seesand zugefügt. Die Schüttelzeit beträgt 30 min. Nach dem Filtrieren wird der Extrakt mit Natriumsulfat getrocknet und auf der bei DRAHWERT et al. (98) beschriebenen Apparatur auf 0,5 ml eingeeengt. Vom eingeeengten Extrakt werden 2 µl für die gaschromatographische Analyse eingesetzt.

c) Säulenextraktion mit Acetonitril

WONG und PARKS (99) beschreiben eine Methode zur Isolierung und Anreicherung von flüchtigen Substanzen aus Käse. Diese Methode wurde auf ihre Anwendbarkeit zur Aroma-Isolierung aus Fruchtpulvern geprüft. 20 g Fruchtpulver und 20 g Celite 545 (Fa. Serva, Heidelberg) werden in der Reibschale verrieben. Die Mischung wird unter Stopfen (mit Glasstab) in eine Chromatographiesäule 18 mm x 400 mm geschichtet.

Einige typische Chromatogramme von Aromakonzentraten sind in Abbildung 7 - 12 dargestellt. Von den erprobten Methoden erwies sich die Wasserdampfdestillation als universell einsetzbar, da hierbei in einem Arbeitsgang die flüchtigen Aromasubstanzen von nichtflüchtigen Begleitsubstanzen abgetrennt und angereichert werden. Die von LINKENS und NICKERSON beschriebene Anordnung der Destillationsapparatur zur Gewinnung des Aroma-Extrakts wurde in einigen Teilen modifiziert und weiterentwickelt. In der ursprünglich vorgeschlagenen Version wurde der Kolben B direkt beheizt und die beim Sieden des Inhalts flüchtigen Substanzen überdestilliert. Nach unseren Erfahrungen führt dies, besonders bei Eiweiß- und Zucker-haltigen Substanzen, durch lokale Überhitzung zu Bräunungsreaktionen, die mit der Bildung von Aromasubstanzen gekoppelt sind. Das Übertreiben flüchtiger Verbindungen mit Wasserdampf ist daher vorzuziehen.

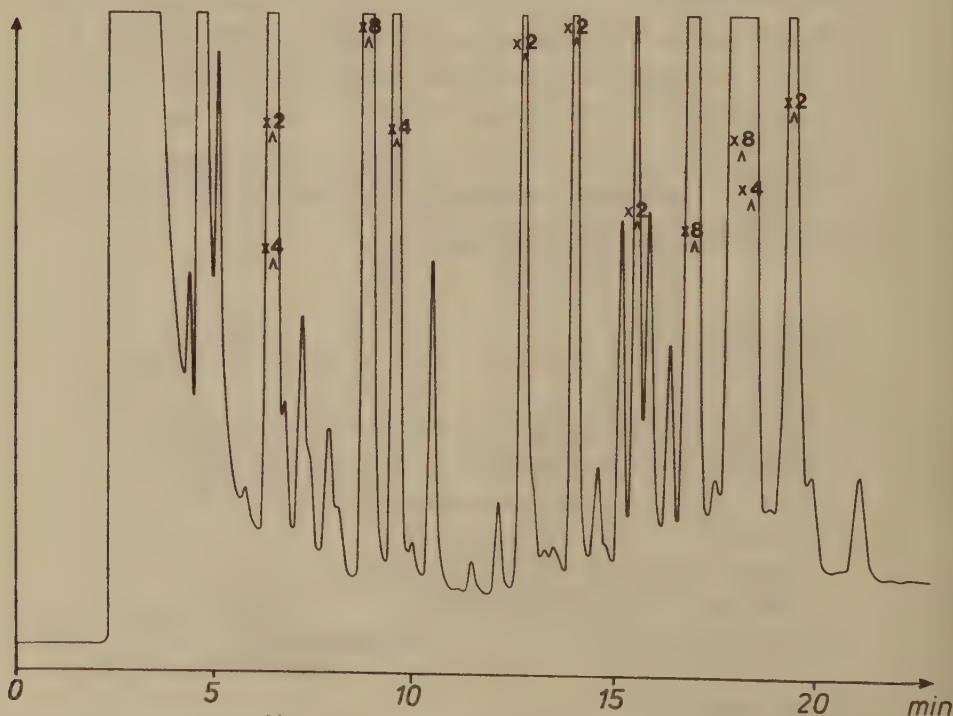


Abbildung 7 Chromatogramm der Aromasubstanzen aus 20 g Birnenpulver, gewonnen durch Wasserdampfdestillation

(x 4 bedeutet, daß die tatsächliche Peak-Höhe viermal größer ist.)

Der vorgeschlagene organische Entschäumer auf Siliconöl-Basis erwies sich für unsere Aufgabenstellung als ungeeignet, da flüchtige Substanzen daraus als störende Peaks im Chromatogramm beobachtet wurden. Die Anwendung von Magnesiumsulfat hat sich in diesem Fall besser bewährt. Starkes Einengen des Extraktes auf 0,05 ml (97) und Wiederaufnehmen der Probe in Äthanol führt nach unseren Erfahrungen zum Verlust leichtflüchtiger Komponenten, sowie zur Überdeckung von Teilen des Chromatogramms durch das „Tailing“ des Äthanol.

Vergleicht man Abbildung 7 und 8, so findet man korrespondierende Peaks auf beiden Chromatogrammen. Daraus ist zu schließen, daß bei der Wasserdampfdestillation im wesentlichen die gleichen Substanzen erfaßt werden wie bei der Extraktion auf kaltem Wege mit Pentan.

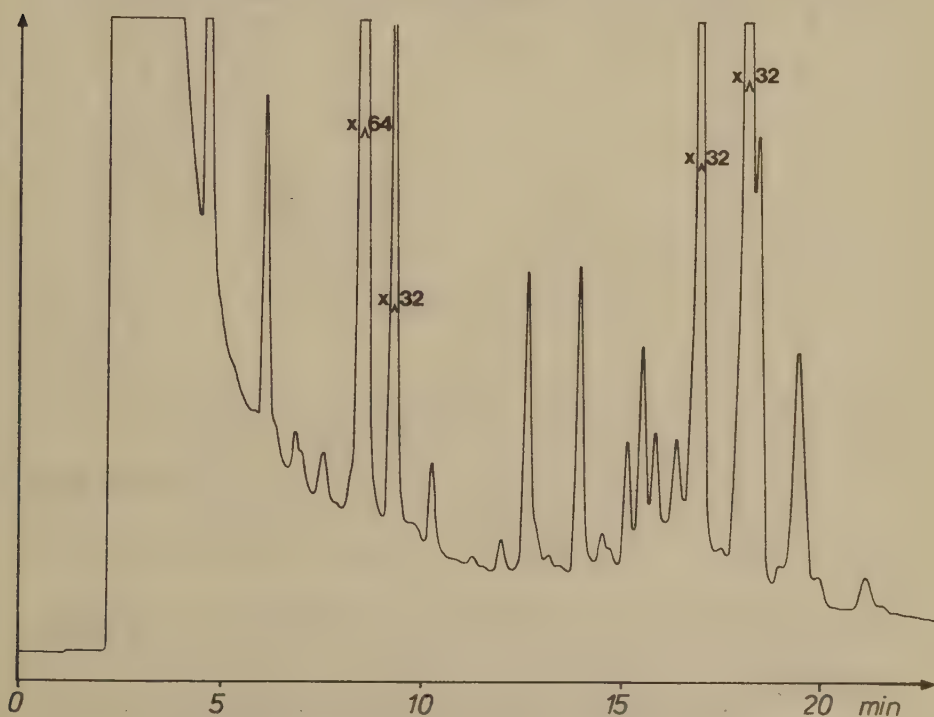


Abbildung 8 Chromatogramm der Aromasubstanzen aus 20 g Birnenpulver, gewonnen durch Pentan-Extraktion

Die Abbildungen 11 und 12 sollen zeigen, daß die Wasserdampfdestillation zur Aromagewinnung aus Fruchtpulvern und frischen Früchten gleichermaßen geeignet ist. Die Extraktion von Aromastoffen mit Pentan in der Kugelmühle bedeutet den geringsten Zeitaufwand, kann jedoch nur für fettfreie Produkte angewandt werden.

Die Aroma-Extraktion nach der von WONG und PARKS beschriebenen Methode führte zu weniger guten Ergebnissen (vgl. Abb. 9). Ein Einengen größerer Mengen Säuleneluat zum Zwecke der Konzentrierung der darin enthaltenen Aromastoffe führt - bedingt durch den hohen Siedepunkt des Acetonitrils - zum Verlust niedrig siedender Anteile.

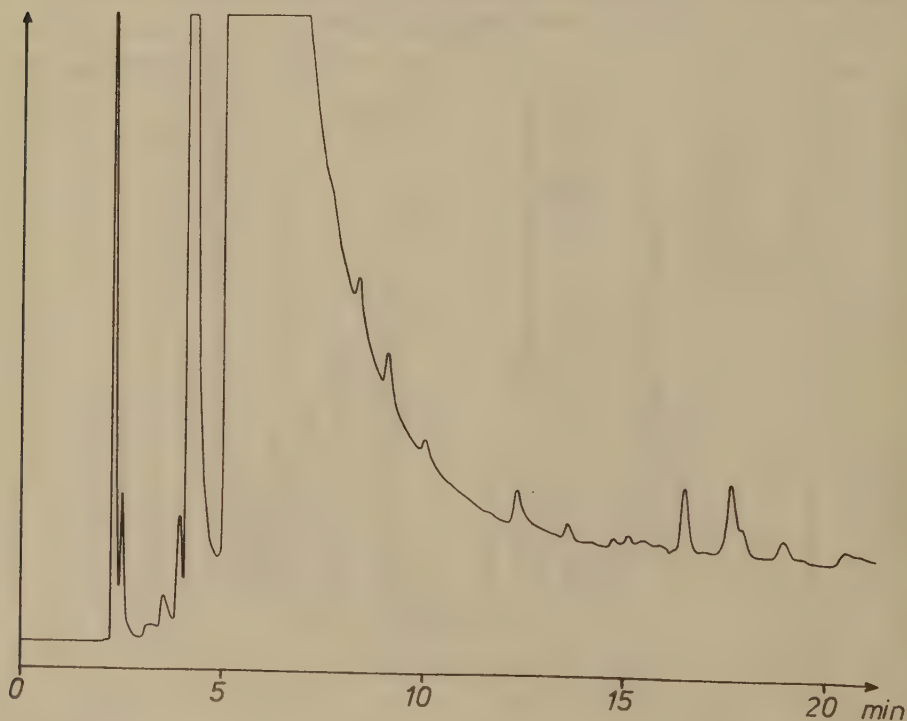


Abbildung 9

Chromatogramm der Aromasubstanzen aus 20 g
Birnenpulver, gewonnen durch Säulen-Extraktion

Bei der headspace-Technik werden in der von uns angewandten Form nur niedrig siedende und daher leichtflüchtige Aromasubstanzen erfaßt, während höher siedende Anteile praktisch fehlen (Abb. 10). Von Vorteil ist die Tatsache, daß im Chromatogramm jeder Lösungsmittelpack fehlt, der bei den anderen Methoden zwangsläufig zur Überlagerung niedrig siedender Komponenten führt.

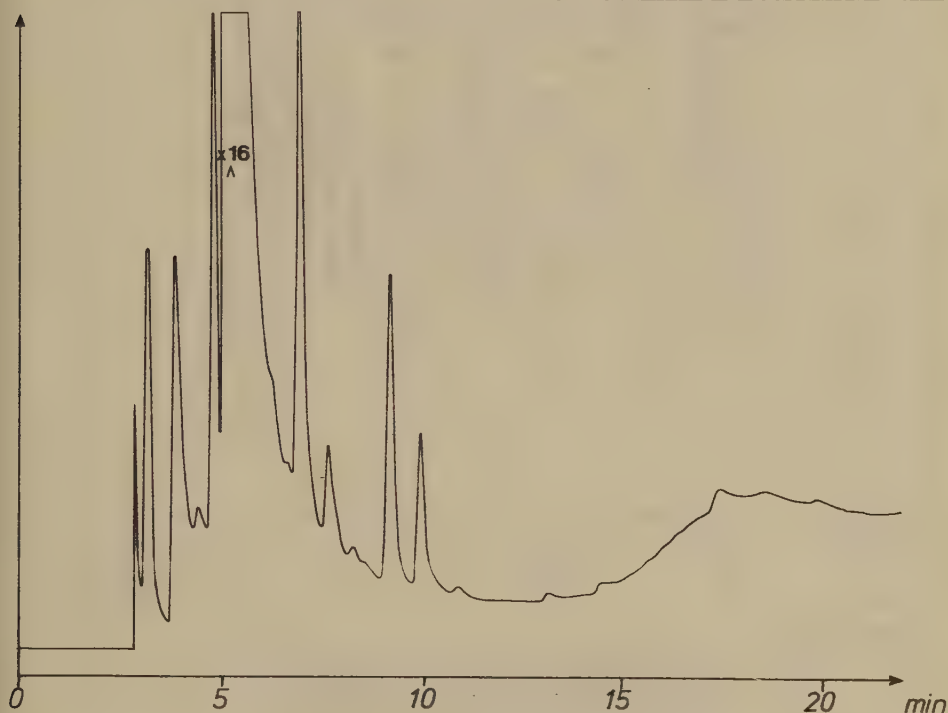


Abbildung 10

Chromatogramm der Aromasubstanzen aus 20 g
Birnenpulver, gewonnen durch headspace-Technik

Aufgrund ihrer universellen Anwendbarkeit wurde für die folgenden Untersuchungen die Methode der Wasserdampf-Destillation mit gleichzeitiger Extraktion und Anreicherung flüchtiger Verbindungen angewandt.

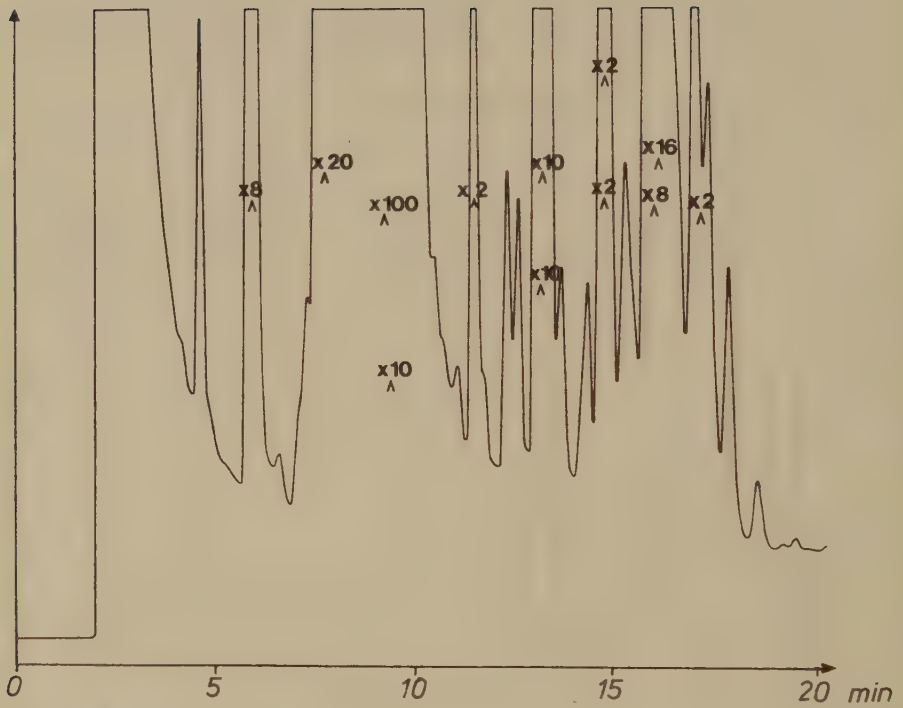


Abbildung 11

Chromatogramm der Aromasubstanzen
aus 20 g Orangenpulver nach Aromage-
winnung durch Wasserdampfdestillation

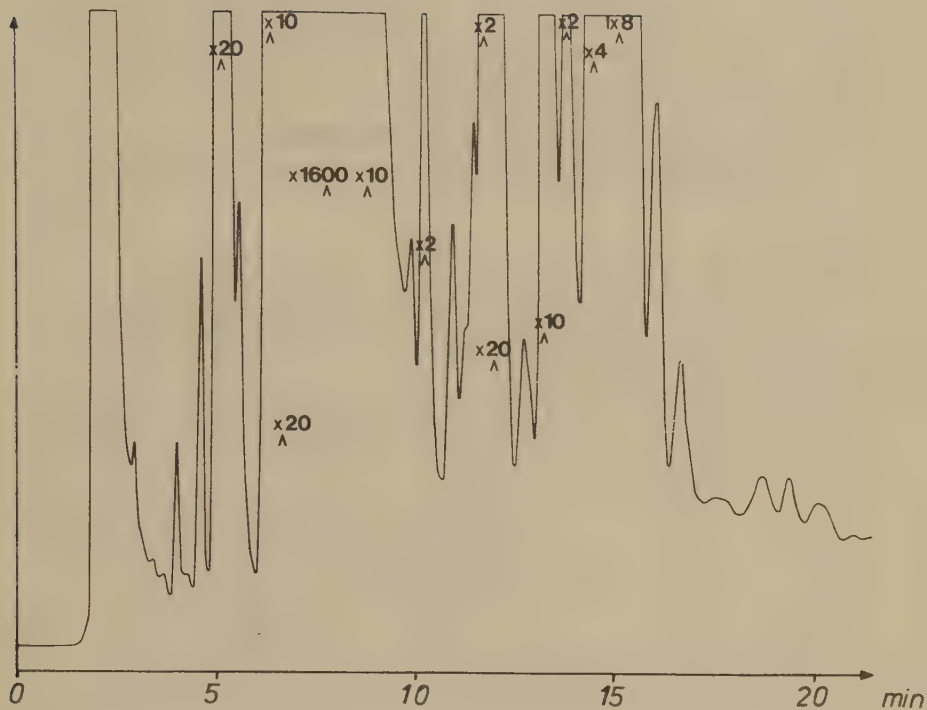


Abbildung 12

Chromatogramm der Aromasubstanzen
aus 150 g frischen ganzen Orangen (im
Starmix zerkleinert) nach Aromagewin-
nung durch Wasserdampfdestillation

5. Bestimmung des Gehaltes an Vitamin C

Vitamin C ist gegen äußere Einflüsse, wie Temperatur, Licht und Oxydation, besonders im neutralen und alkalischen pH-Bereich, empfindlich. In der vorliegenden Arbeit wurde daher der Vitamin C-Gehalt in Abhängigkeit von der Lagerzeit untersucht. Die quantitative Bestimmung erfolgte oxidimetrisch mit Dichlorphenol-Indophenol (DPI), wobei nur die Ascorbinsäure, nicht aber die Dehydro-Ascorbinsäure erfaßt wurde.

Arbeitsweise:

5,00 g Probe werden im Meßkolben mit 30 %igem Äthanol, 0,07 % Oxalsäure enthaltend, auf 100,0 ml aufgefüllt. Nach Umschütteln wird filtriert und 5,0 ml des Filtrats werden mit 25 ml 0,1 %iger wässriger Oxalsäure-Lösung versetzt. Der pH der Lösung wird mit 5 %iger Natriumacetat-Lösung auf 3,5 eingestellt.

Die Titration erfolgt mit ca. $2 \cdot 10^{-4}$ molarer Dinitrophenol-Indophenol-Lösung. Der genaue Titer der DPI-Lösung wird durch Titration einer Vitamin C-Lösung mit bekanntem Gehalt (in unserem Fall 200 mg Vitamin C/l) ermittelt.

A. Ergebnisse aus sensorischen Untersuchungen1. Einfluß der Lagerungszeit unter extremen Bedingungen auf die sensorische Beurteilung

Die in dieser Arbeit untersuchten Produkte wurden nach einer Lagerzeit von 30 Tagen bei Wechselklima mittels Tetraden-Test auf erste sensorische Abweichungen von den entsprechenden tiefgefrorenen Standard-Proben untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 13 a, b zusammengestellt.

Tabelle 13

Sensorische Unterschiede nach 30 Tagen Lagerung,
ermittelt durch den Tetraden-Test

a) Verpackung: Aluminium-Papier-Polyäthylen-Verbundfolie (APPE)

Produkt:	Zahl d. Prüfer	davon erkannten eine Abweichung	Signifikanz*)
1) Adaptierte Säuglingsmilch (ASM)	7	6	***
2) Teiladapt. Säuglingsmilch (TASM)	7	5	***
3) Säuglingsmilch auf 2/3 Milchb (2/3SM)	7	4	**
4) wie Nr. 3 mit Honigzusatz (2/3SM-H)	7	6	***
5) 2/3 Milchbrei mit Früchten (FRÜB)	7	3	-
6) 2/3 Milchbrei mit Zwieback (ZWIB)	7	5	***
7) Vollmilchbrei mit Schokolade (SCHOB)	7	5	***
8) 2/3 Milch-Grießbrei (GRIB)	7	4	**
9) 2/3 Milchbrei mit Orangen (ORAB)	7	2	-

b) Verpackung: Polyäthylen-beschichtetes Natronpapier (PENAP)

Produkt:	Zahl der Prüfer	davon erkannten eine Abweichung	Signifikanz *)
ASM	7	3	-
TASM	7	6	***
2/3SM	6	5	***
2/3SM-H	6	1	-
FRÜB	7	6	***
ZWIB	7	4	**
SCHOB	7	6	***
GRIB	6	4	**
ORAB	6	6	***

*) Die statistischen Wahrscheinlichkeiten der Ergebnisse werden wie folgt angegeben:

- keine statistische Sicherheit
- * das Ergebnis ist zu mehr als 95 % gesichert
- ** das Ergebnis ist zu mehr als 99 % gesichert
- *** das Ergebnis ist zu mehr als 99,9 % gesichert

Wie aus Tabelle 13 ersichtlich ist, zeigten fast alle untersuchten Produkte nach 30 Tagen Lagerzeit unter extremen Bedingungen gesicherte sensorische Abweichungen. Die Entwicklung dieser Veränderungen im weiteren Verlauf der Lagerung wurde durch das 0 - 5 Punkte-Schema (Seite 34) erfaßt. Die Ergebnisse hieraus sind in Tabelle 14 - 17 wiedergegeben. Gleichzeitig werden die F-Werte angegeben, d.h., die Quotienten aus den Varianzen zwischen den Gruppen und den Varianzen innerhalb der einzelnen Gruppen. Mit Hilfe des F-Wertes kann geprüft werden, ob sich die beobachteten Einzelmittelwerte in statistisch gesichertem Ausmaß vom gemeinsamen Mittelwert der betreffenden Probengruppe unterscheiden, oder ob die einzelnen Mittelwerte als gleich betrachtet werden müssen.

Eine Probengruppe umfaßt in diesem Fall die interne Standardprobe die 1, 2, 3 und 4 Monate gelagerten Proben. Bei vier Freiheitsgraden für das größere Durchschnittsquadrat und 35 Freiheitsgraden für das kleinere, sind die Zufallshöchstwerte $F = 2,48$ für $P = 5 \%$, $F = 3,67$ für $P = 1 \%$ und $F = 5,28$ für $P = 0,1 \%$ (58). Bei Überschreitung der genannten Werte sind somit die Beurteilungsmittelwerte einer Gruppe signifikant voneinander verschieden.

Tabelle 14

Einfluß der Lagerung unter extremen Bedingungen
auf die Beurteilung des Geruchs

a) Verpackung: APPE

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
ASM	4,9	3,7	4,3	2,7	1,7	33,51 ***
TASM	4,8	4,4	4,3	2,6	3,0	11,66 ***
2/3 SM	4,4	4,8	4,0	2,6	2,3	10,38 ***
2/3 SM-H	5,0	4,6	3,9	2,3	1,9	15,05 ***
FRÜB	4,8	4,5	3,9	2,8	1,9	24,63 ***
ZWIB	4,9	4,1	2,6	3,6	2,6	7,94 ***
SCHOB	4,6	4,3	3,0	3,3	1,3	14,15 ***
GRIB	4,4	4,9	3,8	3,5	2,6	6,07 ***
ORAB	4,9	5,0	2,9	3,6	1,9	20,21 ***

b) Verpackung: PENAP

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
ASM	4,9	3,6	0,6	0,9	0,3	44,37 ***
TASM	4,8	4,8	1,0	1,1	0,5	107,51 ***
2/3 SM	4,4	4,1	1,1	0,8	0,1	69,78 ***
2/3 SM-H	5,0	4,1	2,9	1,3	0,7	42,11 ***
FRÜB	4,8	4,4	1,9	0,6	0,6	69,95 ***
ZWIB	4,9	4,0	3,0	2,0	0,6	20,01 ***
SCHOB	4,6	4,6	1,1	0,4	0,5	65,27 ***
GRIB	4,4	3,4	2,4	0,9	0,4	20,44 ***
ORAB	4,9	4,6	1,6	1,0	0,3	79,10 ***

Tabelle 15

Einfluß der Lagerung unter extremen Bedingungen
auf die Beurteilung des Geschmacks

a) Verpackung: APPE

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
AS M	4,9	3,7	3,7	2,6	1,6	22,13 ***
TAS M	5,0	4,4	3,4	1,9	2,4	38,57 ***
2/3 SM	4,6	4,5	3,6	2,3	1,6	21,81 ***
2/3 SM-H	4,9	4,6	3,6	1,7	1,0	31,41 ***
FRÜB	4,6	4,8	4,0	3,1	1,5	17,76 ***
ZWIB	4,8	4,8	2,0	2,6	2,1	27,36 ***
SCHOB	4,6	4,3	2,8	2,5	1,0	14,58 ***
GRIB	4,5	4,9	3,0	3,5	2,0	11,42 ***
ORAB	4,9	4,5	2,5	3,1	1,4	19,61 ***

b) Verpackung: PENAP

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
AS M	4,9	3,6	0,5	0,6	0,4	40,81 ***
TAS M	5,0	4,6	0,8	0,8	0,3	130,08 ***
2/3 SM	4,6	3,6	1,6	0,6	0,3	59,76 ***
2/3 SM-H	4,9	4,1	2,1	1,0	0,3	58,26 ***
FRÜB	4,6	3,5	1,6	0,3	0,3	64,33 ***
ZWIB	4,8	4,0	2,1	0,8	0,2	56,00 ***
SCHOB	4,6	4,5	1,0	0,0	0,4	92,12 ***
GRIB	4,5	2,6	1,6	0,5	0,1	21,93 ***
ORAB	4,9	3,9	1,1	0,6	0,0	151,34 ***

Betrachtet man den Verlauf der Beurteilungsmittelwerte zunächst nur bei den in Alu-Papier-PE-Folie verpackten Produkten, so zeigt sich, daß sich die beobachteten sensorischen Abweichungen im Laufe der Lagerung verstärken. Geruchs- und Geschmacksabweichungen verlaufen hierbei im wesentlichen parallel. Dies entspricht der Erwartung, denn die während der Lagerung entstandenen und sensorisch erfaßbaren geschmacks- bzw. geruchsaktiven Verbindungen sind flüchtige Substanzen, die durch das olfaktorische System registriert werden. Eine Veränderung der untersuchten Produkte, die zur Ausbildung süß, sauer, bitter oder salzig schmeckender Komponenten führt, wurde nicht beobachtet. Farbe und Konsistenz ändern sich in weniger starkem Ausmaß. Dies ist auch an der Größenordnung der F-Werte zu ersehen, die z. T. unterhalb der Signifikanzgrenze von 95 % liegen, so daß daraus entnommen werden kann, daß sich in diesen Fällen keine gesicherten Veränderungen ergeben haben. Als typisches Beispiel ist der Verlauf der sensorischen Beurteilungsmittelwerte bei der 2/3-Säuglingsmilch mit Honig in Abbildung 13 dargestellt.

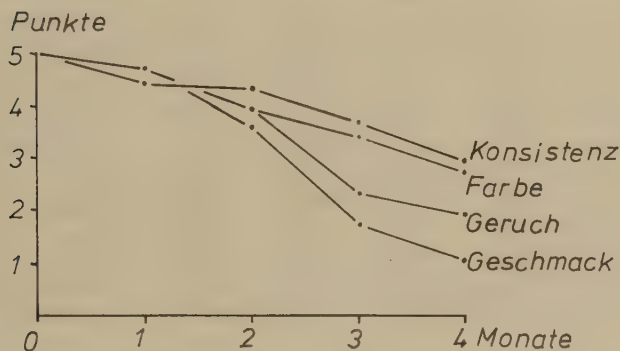


Abbildung 13

Verlauf der Geruchs-, Geschmacks-, Farb- und Konsistenzbeurteilung bei der 2/3-Säuglingsmilch mit Honig im Verlauf der 4-monatigen Lagerung in Alu-Papier-PE-Verbundfolie unter extremen Bedingungen.

Tabelle 16

Einfluß der Lagerung unter extremen Bedingungen
auf die Beurteilung der Farbe

a) Verpackung: APPE

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
ASM	5,0	4,6	4,7	4,6	4,3	2,81*
TASM	5,0	4,8	4,3	4,1	3,8	2,73*
2/3 SM	4,8	5,0	4,8	4,4	4,3	2,12 ⁻
2/3 SM-H	5,0	4,6	3,9	3,4	2,6	7,88***
FRÜB	4,9	4,4	4,3	3,8	2,6	8,65***
ZWIB	4,8	4,5	2,9	4,0	3,9	6,30***
SCHOB	5,0	4,8	4,8	4,6	4,8	1,34 ⁻
GRIB	4,5	4,5	3,9	4,0	3,9	1,77 ⁻
ORAB	4,9	4,6	3,8	3,9	2,5	9,36***

b) Verpackung: PENAP

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
ASM	5,0	4,5	1,8	1,6	1,0	100,43***
TASM	5,0	4,6	1,5	1,6	0,6	71,20***
2/3 SM	4,8	4,6	1,5	1,3	0,3	65,55***
2/3 SM-H	5,0	4,3	2,0	1,4	0,0	98,06***
FRÜB	4,9	3,6	2,1	0,3	0,3	110,64***
ZWIB	4,8	4,5	3,9	2,3	1,0	36,15***
SCHOB	5,0	5,0	3,6	2,8	3,3	7,36***
GRIB	4,5	3,8	3,0	2,3	0,4	21,11***
ORAB	4,9	4,6	2,3	1,6	0,3	70,83***

Tabelle 17

Einfluß der Lagerung unter extremen Bedingungen
auf die Beurteilung der Konsistenz

a) Verpackung: APPE

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
ASM	4,9	4,1	4,4	3,3	4,1	1,45-
TASM	4,6	4,8	4,5	3,8	4,1	1,97-
2/3 SM	4,1	4,4	4,3	3,8	3,5	1,10-
2/3 SM-H	5,0	4,4	4,3	3,7	2,9	4,14-
FRÜB	4,8	4,8	4,5	4,1	4,0	1,61-
ZWIB	4,9	4,8	4,0	4,1	4,0	2,66*
SCHOB	4,8	4,6	3,6	3,8	1,6	21,28***
GRIß	4,4	4,4	3,9	3,8	4,0	1,21-
ORAB	4,6	4,9	3,9	3,8	3,1	5,79**

b) Verpackung: PENAP

Produkt	Lagerzeit in Tagen					F
	0	30	60	90	120	
ASM	4,9	4,3	3,5	3,5	3,3	2,54-
TASM	4,6	4,6	1,5	1,6	1,1	38,85***
2/3 SM	4,1	3,8	1,3	1,1	0,1	30,50***
2/3 SM-H	5,0	4,1	2,6	1,9	0,7	42,12***
FRÜB	4,8	4,1	3,4	1,0	0,9	35,74***
ZWIB	4,9	4,6	4,4	3,3	1,3	26,35***
SCHOB	4,8	4,9	0,9	0,4	0,8	99,37***
GRIß	4,4	3,8	3,0	2,0	0,6	14,90***
ORAB	4,6	4,6	2,8	2,0	1,0	31,16***

Der Verlauf der sensorischen Veränderung, gemessen an den Differenzen zwischen den einzelnen Beurteilungsmittelwerten, ist nicht gleichmäßig über den Beobachtungszeitraum verteilt. Darüber hinaus zeigen die Beurteilungsmittelwerte eine deutliche Abhängigkeit von der Art der verwendeten Verpackung. Dies wird am Beispiel Milchkbrei mit Früchten in Abb. 14 verdeutlicht.

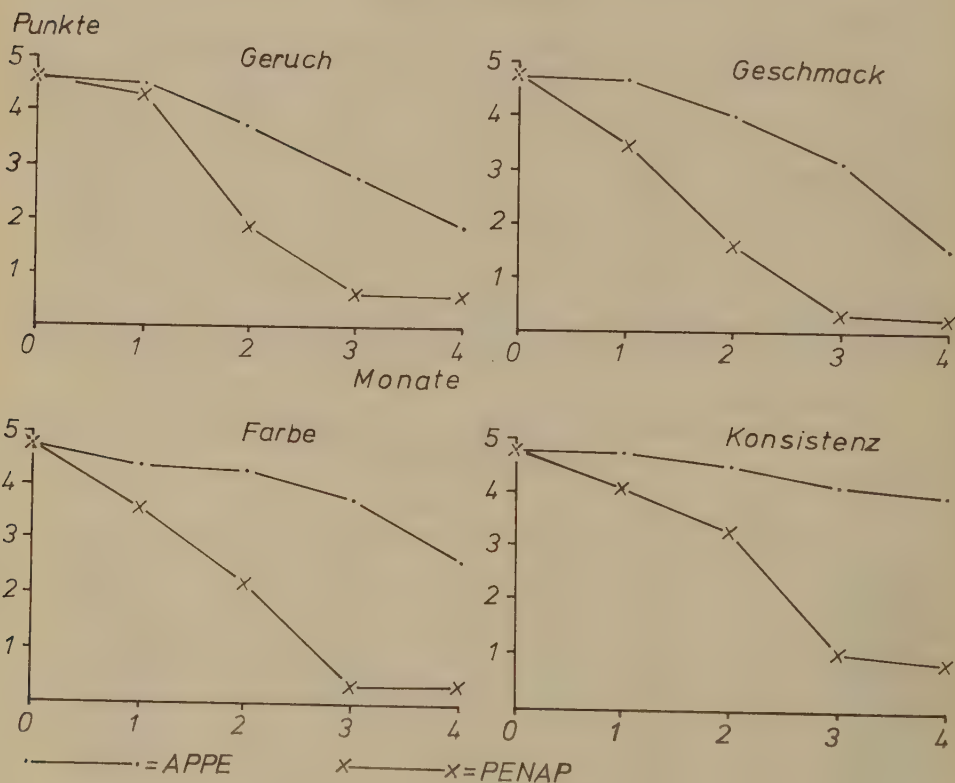


Abbildung 14

Verlauf der Beurteilungsmittelwerte während der 4-monatigen Lagerung beim Milchkbrei mit Früchten unter dem Einfluß verschiedener Verpackungen.

Die nach einmonatiger Lagerung beobachteten Abweichungen sind bei allen Produkten noch gering. Vom zweiten Lagerungsmonat ab zeigen sich stärkere Geschmacks- und Geruchsveränderungen, wobei diese bei Verpackung in PE-beschichtetem Natronpapier besonders deutlich hervortreten. Die Farb- und Konsistenzbeurteilung nach zwei Monaten Lagerungszeit zeigt, daß im Falle der Alu-PE-Papier-Verpackung noch kaum Veränderungen beobachtet wurden, während bei der PE-Natron-Papier-Verpackung bereits deutliche Abweichungen erkennbar sind. Betrachtet man die Differenzen zwischen den einzelnen Beurteilungsmittelwerten, so fällt auf, daß die Mittelwerte bei der Alu-PE-Papier-Verpackung über den gesamten Beobachtungszeitraum einem stetigen Abfall folgen. Bei den in PE-Natronpapier gelagerten Produkten verläuft dieser Abfall steiler, so daß bereits nach drei Monaten Lagerungszeit die Beurteilung ihren tiefsten Stand erreicht hat und sich zwischen drittem und viertem Lagerungsmonat keine Veränderungen mehr ergeben. Dies kann aber auch darauf zurückgeführt werden, daß Veränderungen zwischen dem dritten und vierten Lagerungsmonat zwar vorhanden sind, aber - bedingt durch den Aufbau des verwendeten Notenschemas, bei dem die schlechtest mögliche Bewertung mit Null Punkten anzugeben ist - nicht mehr erfaßt wurden.

Die Differenzen zwischen den einzelnen Beurteilungsmittelwerten und deren statistische Sicherung sind am Beispiel der 2/3-Säuglingsmilch mit Honig in Tabelle 18 wiedergegeben. Die Beurteilung, ob zwischen zwei Mittelwerten eine gesicherte Differenz besteht, erfolgte nach dem Multiple range-Test (58).

Tabelle 18.

Differenzen zwischen den Beurteilungsmittelwerten am Beispiel der 2/3-Säuglingsmilch mit Honig
und deren statistische Sicherung mit dem Multiple range-Test

Dabei bedeuten $\bar{x}_0, \bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots$ die einzelnen Mittelwerte, die nach 0, 1, 2, ... Monaten Lagerungszeit ermittelt wurden. Die Signifikanz der Mittelwert-Differenzen ist wie folgt angegeben:

----- die Differenz ist zu mehr als 95 % gesichert

----- die Differenz ist zu mehr als 99 % gesichert

===== die Differenz ist zu mehr als 99,9 % gesichert

	$\bar{x}_0 - \bar{x}_1$	$\bar{x}_0 - \bar{x}_2$	$\bar{x}_0 - \bar{x}_3$	$\bar{x}_0 - \bar{x}_4$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_3$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_4$	$\bar{x}_2 - \bar{x}_3$	$\bar{x}_2 - \bar{x}_4$	$\bar{x}_3 - \bar{x}_4$
Geruch										
Diff. bei APPE 0,4	<u><u>1,1</u></u>	<u><u>2,7</u></u>	<u><u>3,1</u></u>		0,7	<u><u>1,3</u></u>	<u><u>2,7</u></u>	<u><u>1,6</u></u>	<u><u>2,0</u></u>	0,4
Diff. bei PENAP <u>0,9</u>	<u><u>2,1</u></u>	<u><u>3,7</u></u>	<u><u>4,3</u></u>		<u><u>1,3</u></u>	<u><u>2,9</u></u>	<u><u>3,4</u></u>	<u><u>1,6</u></u>	<u><u>2,2</u></u>	0,6
Geschmack										
Diff. bei APPE 0,2	<u><u>1,3</u></u>	<u><u>3,2</u></u>	<u><u>3,9</u></u>		<u><u>1,0</u></u>	<u><u>2,9</u></u>	<u><u>3,6</u></u>	<u><u>1,9</u></u>	<u><u>2,6</u></u>	0,7
Diff. bei PENAP 0,7	<u><u>2,7</u></u>	<u><u>3,9</u></u>	<u><u>4,6</u></u>		<u><u>2,0</u></u>	<u><u>3,1</u></u>	<u><u>3,9</u></u>	<u><u>1,1</u></u>	<u><u>1,9</u></u>	0,7
Farbe										
Diff. bei APPE 0,3	<u><u>1,1</u></u>	<u><u>1,6</u></u>	<u><u>2,4</u></u>		0,9	<u><u>1,3</u></u>	<u><u>2,1</u></u>	0,4	<u><u>1,3</u></u>	0,9
Diff. bei PENAP <u>0,7</u>	<u><u>3,0</u></u>	<u><u>3,6</u></u>	<u><u>5,0</u></u>		<u><u>2,3</u></u>	<u><u>2,9</u></u>	<u><u>4,3</u></u>	0,6	<u><u>2,0</u></u>	<u><u>1,4</u></u>
Konsistenz										
Diff. bei APPE 0,6	0,7	<u><u>1,3</u></u>	<u><u>2,1</u></u>		0,1	0,7	<u><u>1,6</u></u>	0,6	<u><u>1,4</u></u>	0,9
Diff. bei PENAP <u>0,9</u>	<u><u>2,4</u></u>	<u><u>3,1</u></u>	<u><u>4,3</u></u>		<u><u>1,6</u></u>	<u><u>2,3</u></u>	<u><u>3,4</u></u>	0,7	<u><u>1,9</u></u>	<u><u>1,2</u></u>

2. Einfluß der Verpackung auf das Lagerverhalten

Vergleicht man den zeitlichen Verlauf der Beurteilungsmittelwerte hinsichtlich der beiden Verpackungsarten, so zeigt sich, wie schon vorher erwähnt, daß die Bewertung der in PE-beschichteten Natronpapier verpackten Produkte schneller und deutlicher abnimmt. Es wurde daher mittels t-Test für abhängige Variable (58) geprüft, ob ein statistisch gesicherter Einfluß der Verpackung auf das Lagerverhalten vorliegt. Dazu wurden die Bewertungen für die vier Beurteilungskriterien nach 1, 2, 3 und 4 Monaten Lagerung in bezug auf die Verpackung miteinander verglichen. Für die Beispiele teiladaptierte Säuglingsmilch und Milchgrießbrei sind die ermittelten t-Werte in Tabelle 19 wiedergegeben.

Tabelle 19

Einfluß unterschiedlicher Verpackungsarten
auf das Lagerverhalten

t-Werte für die Differenzen der Mittelwerte bei der sensorischen Beurteilung

	Lagerungszeit in Monaten			
	1	2	3	4
<u>Geruchsbeurteilung</u>				
teiladaptierte Säuglingsmilch	1,43 ⁻	10,37 ^{***}	3,97 ^{**}	9,35 ^{***}
Milchgrießbrei	2,51 [*]	2,58 [*]	4,65 ^{**}	7,18 ^{***}
<u>Geschmacksbeurteilung</u>				
teiladaptierte Säuglingsmilch	1,53 ⁻	6,25 ^{***}	3,81 ^{**}	7,20 ^{***}
Milchgrießbrei	3,21 [*]	2,43 [*]	6,48 ^{***}	4,71 ^{**}
<u>Farbbeurteilung</u>				
teiladaptierte Säuglingsmilch	1,00 ⁻	6,68 ^{***}	4,14 ^{**}	7,85 ^{***}
Milchgrießbrei	2,05 ⁻	1,22 ⁻	3,86 ^{**}	9,26 ^{***}
<u>Konsistenzbeurteilung</u>				
teiladaptierte Säuglingsmilch	0,42 ⁻	7,94 ^{***}	4,12 ^{**}	7,94 ^{***}
Milchgrießbrei	1,67 ⁻	1,82 ⁻	3,86 ^{**}	12,83 ^{***}

Die Zufallshöchstwerte, bei deren Überschreitung die Differenz als gesichert angesehen werden kann, sind bei 7 Freiheitsgraden $t = 2,37$ für $P = 5 \%$, $t = 3,50$ für $P = 1 \%$ und $t = 5,41$ für $P = 0,1 \%$ (58).

Es zeigen sich am Anfang der Lagerungszeit nur geringfügige Unterschiede im Lagerverhalten der in PE-beschichtetem Natronpapier bzw. Alu-PE-Papier verpackten Produkte. Nach zwei bzw. drei Monaten Lagerung ist der Einfluß der Verpackung auf das Lagerverhalten deutlicher erkennbar. Die Bewertung für die in Alu-PE-Papier verpackten Produkte liegt nach 2, 3 und 4 Monaten signifikant höher. Es kann also als gesichert angenommen werden, daß die Alu-PE-Papierfolie für die Verpackung der untersuchten Produkte besser geeignet ist. Der Grund für diesen Unterschied dürfte in der unterschiedlichen Sauerstoff- und Wasserdampfdurchlässigkeit zu suchen sein, da die in den untersuchten Produkten bei erhöhter Temperatur ablaufenden chemischen Reaktionen im wesentlichen Umsetzungen sind, deren Geschwindigkeit vom Sauerstoff- bzw. Wassergehalt des Reaktionsgemischs abhängt.

3. Einfluß der Zusammensetzung auf das Lagerverhalten

Der Verlauf der Beurteilungsmittelwerte (Tabelle 14 - 17) läßt erkennen, daß sich die beurteilten sensorischen Abweichungen bei den verschiedenen Produkten unterschiedlich schnell entwickeln. Es wurde daher geprüft, ob die Zusammensetzung der Produkte

- a) einen Einfluß auf die Beurteilung durch die Prüfer und
- b) auf das Lagerverhalten ausübt.

Zur Klärung der ersten Frage wurde eine einfache Varianzanalyse der Beurteilungsmittelwerte der neun internen Standard-Proben durchgeführt. Der Zufallshöchstwert bei $P = 5 \%$, 8 Freiheitsgraden für das größere und 63 Freiheitsgraden für das kleinere Durchschnittsquadrat ist dabei $F = 2,0$ (58). Dieser Wert wurde bei keinem der vier Prüfkriterien erreicht, so daß damit gesichert ist, daß die Zusammensetzung der untersuchten Produkte keinen Einfluß auf die Beurteilung durch die Prüfer hat.

Die Varianzanalyse der Beurteilungsmittelwerte aller neun Produkte, gesondert für jede Verpackungsart nach 30, 60, 90 und 120 Tagen durchgeführt, ergab die in Tabelle 20 wiedergegebenen F-Werte. Dabei wurden die Zufallshöchstwerte $F = 2,0$ für $P = 5 \%$, $F = 2,65$ für $P = 1 \%$ und $F = 3,54$ für $P = 0,1 \%$ zugrundegelegt (58).

Tabelle 20

Einfluß der Zusammensetzung auf das
Lagerverhalten

F-Werte der einfachen Varianzanalyse

	Lagerungszeit in Monaten							
	1	2	3	4	1	2	3	4
Prüfungs- kriterien	Verpackung: APPE				Verpackung: PENAP			
Geruch	3,19**	1,05 ⁻	1,60 ⁻	2,68*	2,15*	5,56***	2,45*	1,36 ⁻
Geschmack	3,04**	3,21**	2,42*	1,94 ⁻	2,55*	3,90***	1,47 ⁻	2,64*
Farbe ¹	2,04 ⁻	3,92***	1,38 ⁻	5,31***	2,82**	16,04***	5,66***	15,16***
Konsistenz	1,08 ⁻	1,03 ⁻	5,89**	6,45***	1,69 ⁻	10,83***	8,92***	6,09***

Da die Zusammensetzung der Proben keinen Einfluß auf die Bewertung durch die Prüfer hat, müssen Beurteilungsunterschiede zwischen den einzelnen Produkten nach den verschiedenen Lagerzeiten im Falle signifikanter F-Werte auf den Einfluß der Zusammensetzung auf das Lagerverhalten zurückgeführt werden.

Im Falle signifikanter F-Werte, d. h. bei statistisch gesicherten Beurteilungsunterschieden, wurde der Multiple range-Test durchgeführt. Auf diese Weise konnten einerseits Produkte ermittelt werden, bei denen sensorische Unterschiede besonders deutlich hervortreten, und zum anderen solche, die sich aufgrund ihrer Zusammensetzung im Laufe der Lagerung weniger stark verändern.

¹ Der nach einem Monat Lagerungszeit in APPE-Verpackung gefundene F-Wert von 2,04 ist statistisch nicht signifikant, weil DQ_2 größer als DQ_1 ist. Für $F = 2,04$ ist $P = 0,1$ (für $F = 2,65$ ist $P = 0,01$ und für $F = 3,54$ ist $P = 0,001$).

Diejenigen Differenzen zwischen 2 Mittelwerten, bei deren Überschreitung der Unterschied als gesichert angesehen werden kann, sind in Tab. 21 zusammengestellt.

Tabelle 21

Signifikante Differenzen zwischen den Beurteilungsmittelwerten der einzelnen Produkte bei signifikanten F-Werten aufgrund des Multiple range-Tests.

Prüfungs- kriterien	Lagerungszeit in Monaten							
	1	2	3	4	1	2	3	4
	Verpackung: A P P E				Verpackung: P E N A P			
Geruch	0,6*	-	-	0,9*	0,9*	1,0*	0,8*	-
	0,8**	-	-	1,3**	1,2**	1,3**	1,1**	-
	1,1***	-	-	1,6***	1,6***	1,8***	1,5***	-
Geschmack	0,6*	1,0*	1,1*	-	1,1*	0,8*	-	0,3*
	0,7**	1,4**	1,4**	-	1,4**	1,1**	-	0,4**
	0,9***	1,8***	1,8***	-	1,8***	1,4***	-	0,6***
Farbe	-	0,9*	-	0,9*	0,8*	0,8*	0,9*	0,7*
	-	1,2**	-	1,2**	1,0**	1,1**	1,1**	1,0**
	-	1,6***	-	1,6***	1,3***	1,4***	1,5***	1,2***
Konsistenz	-	-	0,5*	0,9*	-	1,0*	1,0*	1,0*
	-	-	0,6**	1,2**	-	1,3**	1,3**	1,3**
	-	-	0,8***	1,6***	-	1,7***	1,7***	1,7***

Es zeigte sich bei beiden Verpackungsarten, daß Geruchs- und Geschmacksabweichungen bei der adaptierten Säuglingsmilch stärker in Erscheinung treten, als bei der teiladaptierten (vgl. Tabelle 14 und 15). Bei der Beurteilung der Farbe dagegen zeigt die adaptierte Milch die geringeren Veränderungen (vgl. Tabelle 16). Dies kann darauf zurückgeführt werden, daß die adaptierte Milch relativ geschmacksneutral und kaum süß ist, so daß Geschmacks- und Geruchsveränderungen vom Prüfer besonders deutlich wahrgenommen werden. Die adaptierte Milch enthält als einziges Kohlehydrat Lactose. Die für die Bildung gefärbter Maillard-Produkte notwendigen Monosaccharide stehen somit in der Anfangsphase der Lagerung nicht zur Verfügung und müssen durch Lactose-Spaltung erst gebildet werden, so daß es erst nach längerer Reaktionszeit zu einer Verfärbung kommt. Bei den Brei-Produkten bildet der Schokoladenbrei insofern eine Ausnahme, als er im Geruch, Geschmack und in der Konsistenz deutliche Veränderungen zeigt, während die Farbabweichungen scheinbar unbedeutend sind (vgl. Tabelle 14 - 17). Hier liegt die Erklärung darin, daß die Eigenfarbe der Schokolade die bräunlichen und gelblichen Farbveränderungen überdeckt, und dem Produkt dadurch eine zu hohe Bewertung zuteil wurde. Bei der Beurteilung der Farbe im Falle der Alu-PE-Papier-Verpackung fällt auf, daß die Milchprodukte, mit Ausnahme der Honigmilch, deutlich geringere Farbabweichungen zeigten als die gleich lange gelagerten Brei-Produkte. In Abbildung 15 wird dies anhand der Farbbeurteilung für 2/3-Säuglingsmilch und Orangen-Milchbrei gezeigt.

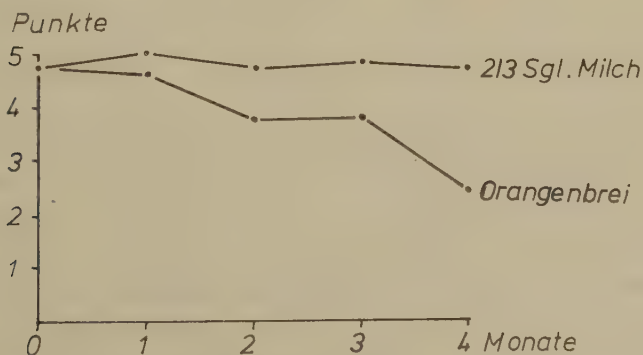


Abbildung 15 Farbbeurteilung für 2/3-Säuglingsmilch und Orangen-Milchbrei bei Verpackung in Alu-PE-Papier-Verbundfolie.

Der Grund für dieses unterschiedliche Lagerverhalten dürfte darin liegen, daß, bedingt durch den Fruchtgehalt der Breie, Monosaccharide und Säuren für die Bildung von Maillard-Produkten zur Verfügung stehen, während die Reaktion bei den Milchprodukten durch geringe Säurekonzentration entsprechend langsamer abläuft.

Diese Annahme wird dadurch gestützt, daß die Abweichungen beim Geruch, Geschmack und in der Farbe beim Grießbrei, der ja frei von Fruchtsäure ist, weniger deutlich ist. Beim Zwiebackbrei ist die geringere Farbabweichung wie beim Schokoladenbrei der bräunlichen Eigenfarbe, die scheinbar geringere Geschmacks- und Geruchsveränderung der Überdeckung durch den caramelatigen Eigengeschmack zuzuschreiben.

B. Ergebnisse aus chemischen Untersuchungen

1. Veränderungen der freien Aminosäuren (FAS) während der Lagerung

Bei den beiden hierauf untersuchten Produkten, teiladaptierte Säuglingsmilch und Orangen-Milchbrei, fanden sich Aminosäureveränderungen, deren Verlauf bei beiden Verpackungsarten im wesentlichen übereinstimmte. In Tabelle 22 sind die Änderungen der Aminosäuregehalte, angegeben als Mittelwerte aus vier Bestimmungen, am Beispiel Orangenbrei dargestellt. Die durchschnittlichen Verluste der einzelnen FAS nach 4-monatiger Lagerung sind in Tabelle 23 wiedergegeben.

Tabelle 22 Einfluß der Lagerungsdauer auf den Gehalt freier Aminosäuren beim Orangen-Milchbrei

Aminosäure	0	30	60	90	120	Tage Lagerung
						mg/kg
Lysin	32,2	29,7	23,3	21,9	13,3	
Arginin	64,7	62,5	30,0	-	30,2	
Asparaginsäure	103,8	93,0	96,2	89,0	78,8	
Threonin	99,6	93,2	89,7	73,4	66,6	
Glutaminsäure	150,5	139,0	105,8	117,7	76,2	
Prolin	99,7	95,8	86,9	81,1	77,5	
Glycin	19,7	17,8	17,5	16,9	12,5	
Alanin	36,3	31,1	31,9	34,8	30,5	
Valin	9,1	-	6,0	10,8	4,1	
Leucin	8,5	9,1	7,4	7,3	7,2	
Isoleucin	4,3	4,3	3,0	3,8	3,1	
Methionin	4,0	3,0	-	-	-	
Tyrosin	4,4	4,2	5,6	4,7	4,2	
Phenylalanin	9,4	9,3	13,9	6,8	8,6	
Ammoniak	26,3	36,2	21,6	37,6	48,5	

Alle FAS nahmen während der Lagerung stetig ab. Besonders deutlich zeigten sich die Verluste bei Lysin, Arginin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Threonin, während bei den aliphatischen Aminosäuren die Verluste niedriger lagen, bzw. - bedingt durch geringe Konzentration der Aminosäure und damit verbunden große Fehlerbreiten bei der analytischen Erfassung - als zufällig betrachtet werden müssen. Die Verluste sind darauf zurückzuführen, daß die FAS mit anderen Inhaltsstoffen wie z. B. Zuckern in Reaktion treten und dadurch der Aminosäuren-Analyse entzogen werden.

Die höheren Verluste der beiden basischen Aminosäuren Lysin und Arginin sind auf die Reaktionsfähigkeit der ϵ -ständigen Amino- bzw. Guanidyl-Funktionen an den Seitenketten zurückzuführen.

ERBERSDOBLER (103 - 106) wies nach, daß die ϵ -ständige Amino-
gruppe des Lysins mit Glucose und Fructose bei erhöhter Temperatur zu Fructoselysin reagiert. Diese Verbindung setzt sich weiter um zu Furosin und Pyridosin. Weiter wurde auch eine Arginin- und Histidinschädigung bei erhöhter Temperatur festgestellt. Diese Untersuchungen wurden jedoch an Peptiden gemacht, während sich die vorliegende Arbeit mit der Veränderung der FAS beschäftigt. Bei Glutaminsäure und Asparaginsäure ist das freie Carboxylende dieser Aminosäuren für ihre erhöhte Reaktionsfreudigkeit verantwortlich. Tyrosin und Phenylalanin kommen als FAS in so geringer Konzentration vor, daß die gefundenen Werte nicht für eine Interpretation herangezogen werden können. Weitere Reaktionsmöglichkeiten der Aminosäuren wurden bereits bei der Beschreibung der Methodik diskutiert.

Tabelle 23

Verlust an freien Aminosäuren nach 4-monatiger
Lagerung unter akzelerierten Bedingungen bei der
teildaptierten Säuglingsmilch und beim Orangen-
Milchbrei

Aminosäure	Verlust in Prozent bei :	
	teildaptierter Säuglingsmilch	Orangen-Milchbrei
Lysin	38,7	58,7
Arginin	22,6	53,3
Asparaginsäure	36,1	24,1
Threonin	28,8	33,1
Glutaminsäure	55,1	49,4
Prolin	28,4	22,3
Glycin	26,5	36,5
Alanin	26,0	16,0
Valin	(32,3)	(54,9)
Leucin	15,9	15,3
Isoleucin	24,4	27,9
Tyrosin	(14,4)	(4,5)
Phenylalanin	(41,4)	(8,5)
Ammoniak	+ 78,4	+ 45,8

Die in Klammern gesetzten Zahlen bedeuten, daß es sich um Werte handelt, die aufgrund geringer Konzentration der betreffenden Aminosäure und/oder Schwierigkeit bei der analytischen Erfassung mit Zurückhaltung betrachtet werden müssen.

Der als Abbauprodukt auftretende Ammoniak zeigte im Verlauf der Lagerung eine deutliche Zunahme. Eine Neubildung von FAS durch Protein-Hydrolyse ist aufgrund des geringen Wassergehaltes der untersuchten Produkte nicht zu erwarten und konnte auch nicht beobachtet werden. NEHRING (100) fand dagegen bei flüssigen Fruchtkonzentraten zuerst eine Abnahme, später jedoch wieder eine Zunahme freier Aminosäuren. Diese Beobachtung wird durch hydrolytische Vorgänge erklärt.

2. Veränderung der Gehalte an Hydroxymethylfurfural (HMF) während der Lagerung

Die ermittelten HMF-Gehalte sind in Tabelle 24 wiedergegeben.

Tabelle 24

Einfluß von Lagerungszeit und Verpackung auf den Gehalt an Hydroxymethylfurfural

a) Verpackung: APPE				Gehaltsangaben in μ Mol/kg	
Produkt	Lagerzeit in Tagen			90	120
	0	30	60		
ASM	43,9	42,1	44,6	44,5	39,2
TASM	39,8	44,1	56,6	44,6	56,5
2/3 SM	52,8	55,7	53,0	83,1	58,8
2/3 SM-H	444,9	446,3	403,4	403,5	350,3
FRÜB	167,9	179,1	192,5	202,4	222,4
ZWIB	848,2	814,6	594,2	768,3	718,6
SCHOB	213,1	211,8	206,5	218,2	237,4
GRIB	236,3	231,6	225,5	212,9	256,9
ORAB	205,7	202,0	225,0	268,9	269,7

b) Verpackung: PENAP				Gehaltsangaben in μ Mol/kg	
Produkt	Lagerzeit in Tagen			90	120
	0	30	60		
ASM	43,9	54,3	56,7	94,6	91,9
TASM	39,8	42,8	49,4	51,5	82,0
2/3 SM	52,8	66,2	72,8	78,5	83,7
2/3 SM-H	444,9	449,1	276,4	273,1	258,9
FRÜB	167,9	204,3	214,4	231,2	266,9
ZWIB	848,2	852,7	609,2	594,1	453,6
SCHOB	213,1	227,6	228,6	200,5	250,3
GRIB	236,3	231,7	223,3	231,7	230,3
ORAB	205,7	178,9	165,6	196,8	231,2

Wie die Werte zeigen, sind die Anfangsgehalte nicht für alle Produkte gleich. Während die Werte bei den Milchprodukten um 40 bis 50 μ Mol/kg liegen, sind die Ausgangswerte bei den Brei-Produkten um den Faktor 5 bis 10 mal höher. Der bei den Breien allgemein höhere HMF-Gehalt kommt durch die Mitverwendung von Honig zustande. Die extrem hohen Ausgangswerte bei der 2/3-Milch mit Honig und beim Zwiebackbrei sind durch den natürlichen HMF-Gehalt des Honigs bzw. des Zwiebacks zu erklären. Der zu erwartende Anstieg des HMF-Gehaltes mit der Lagerungszeit ist nicht in allen Fällen gegeben. So zeigen die beiden Produkte mit den höchsten HMF-Ausgangswerten einen deutlichen Abfall. Dieses abweichende Verhalten ist dadurch zu erklären, daß HMF ein bei der beginnenden Maillard-Reaktion auftretendes Zwischenprodukt ist. HMF kann auf verschiedene Weise weiterreagieren:

- a) durch Oxydation zu Dehydroschleimsäure (109)
- b) durch Säure-Einwirkung zu Lävulinsäure (109)
- c) nach Reaktion mit Aminen zu höher molekularen Melanoidinen.

Bei den Untersuchungen zeigte sich, daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Bildung und des Abbaus von HMF von der Art der Verpackung abhängt. Die nicht mit Aluminium kaschierte PENAP-Verpackung zeigte im Verlauf der Lagerung eine deutlich höhere Wasserdampfdurchlässigkeit als die APPE-Folie (Tabelle 25). Der höhere Wassergehalt führt einerseits zu einer Reaktionsbeschleunigung und damit zur vermehrten Bildung von HMF, und andererseits durch die parallel zur Wasserdampfdurchlässigkeit erhöhte Sauerstoffdurchlässigkeit auch zum beschleunigten Abbau. Da sich Aufbau und Abbau von HMF überlagern, ist es durchaus möglich, auch HMF-Abnahmen im Verlauf der Lagerung zu beobachten. So ermittelte NEHRING (100) bei der Lagerung von Sirup nach anfänglichem Anstieg und Durchlaufen eines Maximums eine Abnahme der HMF-Werte. Das Verhalten des HMF im Verlaufe der Lagerung wird in Abbildung 16 an zwei typischen Beispielen dargestellt.

2/3-Säuglingsmilch mit Honig

Milchbrei mit Früchten

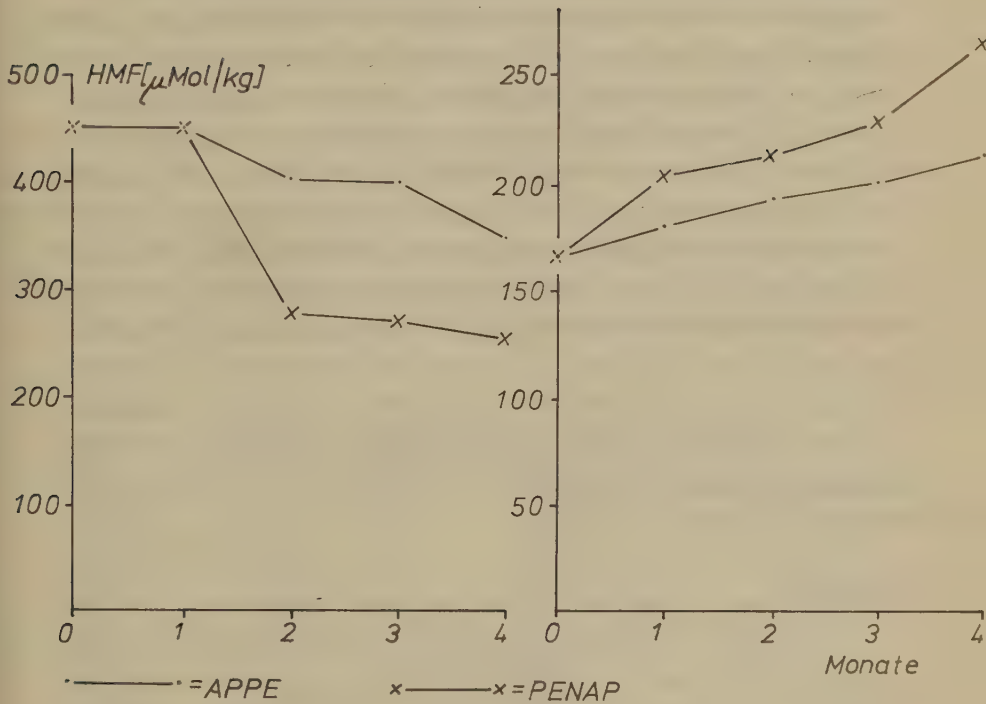


Abbildung 16

HMF-Gehalte bei 2/3-Säuglingsmilch mit Honig und Milchbrei mit Früchten in Abhängigkeit von Lagerzeit und Verpackung

Die gefundenen HMF-Gehalte von 40 bis ca. $700 \mu\text{Mol/kg}$, entsprechend 0,7 bis 20 ppm, bezogen auf die verzehrsfertige Zubereitung, nach 4-monatiger Lagerung liegen zwar im Bereich des Schwellenwerts von 5 ppm (101) oder darüber, dürften aber beim Zustandekommen des Fehlgeschmacks unmittelbar nicht beteiligt sein. Beim Zwiebackbrei und bei der 2/3-Säuglingsmilch mit Honig ist sogar eine deutliche Erniedrigung der HMF-Gehalte zu beobachten, so daß hier das sensorisch schlechter beurteilte Produkt den niedrigeren HMF-Gehalt aufweist.

Bei einigen der untersuchten Produkte zeigte sich im Verlauf der Lagerung keine Veränderung des HMF-Gehaltes, bzw. Änderungen die in der Fehlergrenze der Bestimmungsmethode liegen. Diese Produkte zeigten aber dennoch eine starke Veränderung ihrer sensorischen Qualität. Es ist hieraus zu folgern, daß der absolute Gehalt an HMF nicht in direkter Beziehung zum sensorischen Eindruck steht. Starke Veränderungen des HMF-Gehaltes im Verlauf der Lagerung jedoch deuten auf erhebliche sensorische Veränderungen. Dies wird deutlich, wenn man die sensorische Beurteilung der untersuchten Produkte hinsichtlich ihrer Verpackung mit der Veränderung der HMF-Gehalte in Beziehung setzt. Bis auf zwei Ausnahmen, Milch-Grießbrei und Orangenbrei, zeigt sich bei allen untersuchten Produkten am Ende der 4-monatigen Lagerung im Falle der PE-Natronpapier-Verpackung eine deutlich stärkere Änderung des HMF-Gehaltes - sei es Zunahme oder Abnahme - gegenüber dem Ausgangswert. Die sensorische Beurteilung der in dieser Verpackung gelagerten Produkte ist, wie bereits festgestellt, in statistisch gesichertem Ausmaß schlechter als diejenige der in Alu-Papier-PE-Folie gelagerten Proben.

Tabelle 25

Wassergehalt von 2/3-Säuglingsmilch mit Honig und
Milch-Grießbrei in Abhängigkeit von Lagerungszeit
und Verpackung

Probe	/ Verpackung	Lagerungszeit in Tagen:				
		0	30	60	90	120
2/3 SM-H	APPE	3,8	3,8	4,1	4,3	4,4
-	PENAP	3,8	4,3	4,3	4,8	5,2
GRIB	APPE	2,7	2,9	3,1	3,2	3,5
-	PENAP	2,7	3,7	3,9	4,5	5,5

3. Änderung der pH-Werte im Laufe der Lagerung

Die Untersuchung der pH-Werte sollte die Frage klären, ob sich, analog den Beobachtungen von FRICKER und GUTSCHMIDT (102) bei Babykost-Naßkonserven, auch bei entsprechenden Trockenprodukten eine Veränderung des pH-Wertes während der Lagerungsdauer feststellen läßt,

Die Messungen erfolgten mit einem pH-Meßgerät Typ pH Meter 26 der Firma Radiometer Copenhagen, wobei die untersuchten Produkte zu 10 %iger Lösung mit destilliertem Wasser gelöst bzw. suspendiert wurden.

Die pH-Werte folgten einem stetigen Abfall, der bei der PE-Natronpapier-Verpackung deutlicher ausgeprägt war. Die Ausgangswerte und die nach 4-monatiger Lagerung gefundenen Werte sind in Tabelle 26 zusammengestellt.

Tabelle 26

pH-Werte zu Beginn und nach Ende der 4-monatigen Lagerung in Abhängigkeit von der Verpackung

Produkt	Ausgangswert	nach vier Monaten Lagerung in	
		APPE-Verpackung	PENAP-Verpackung
AS M	6,68	6,66	6,40
TAS M	6,68	6,60	6,52
2/3 SM	6,74	6,72	6,53
2/3 SM-H	6,61	6,56	6,47
FR ÜB	6,40	6,35	6,14
Z WIB	6,60	6,54	6,43
SCHOB	6,78	6,50	6,48
GRIB	6,62	6,59	6,47
ORAB	6,24	6,21	6,19

Der Grund für die Änderung der pH-Werte kann nicht im Freiwerden von Fettsäuren oder Aminosäuren gesucht werden, da diese aufgrund ihrer geringen Menge für eine meßbare Änderung der H^+ -Konzentration nicht in Frage kommen. Eine Erklärung kann vielmehr darin liegen, daß durch zunehmende Eiweiß-Denaturierung dessen Fähigkeit zur Pufferung der natürlicherweise in den untersuchten Produkten vorkommenden Säuren verloren geht. Durch einen Modellversuch wurde die Abhängigkeit der Pufferwirkung von Milcheiweiß von dessen Denaturierung untersucht.

Versuchsanordnung:

	Hauptversuch	Blindversuch
Magermilchpulver	10 g	10 g
dest. Wasser	90	92,5
Citronensäure (10 %)	2,5	-
pH	<u>5,56</u>	<u>6,71</u>
Magnesiumsulfat	20,0 g	20,0 g
Nach Aufkochen zur Eiweiß-Fällung wurde erneut der pH gemessen:		
pH	<u>5,12</u>	<u>6,48</u>

Da sich die Differenzen der pH-Werte von Hauptversuch und Blindversuch nicht ohne weiteres miteinander vergleichen lassen, da es sich hier um Protonen-Konzentrationen handelt, die sich um den Faktor 10 unterscheiden, wurden die pH-Werte in die entsprechenden Protonen-Konzentrationen umgerechnet, subtrahiert und wieder in pH-Werte zurückgerechnet. Dabei ergibt sich, daß sich beim Hauptversuch nach Abzug des Blindversuchs eine tatsächliche pH-Wertänderung von 5,56 auf 5,33 ergeben hat. pH-Wertänderungen dieser Größenordnung wurden ebenfalls bei der Lagerung der untersuchten Produkte in PE-Natronpapier-Verpackung beobachtet. Dieses Ergebnis steht in Einklang zu anderen bisher beschriebenen Befunden, aus denen hervorgeht, daß die Qualitätsminderung im Verlauf der Lagerung bei der Alu-PE-Papier-Verpackung weniger stark ausgeprägt ist.

4. Veränderung der Vitamin C-Gehalte während der Lagerung

Die Bestimmung der Ascorbinsäure-Gehalte ergab in allen Fällen eine deutliche Abnahme im Verlauf der Lagerung, die in Tabelle 27 für 2/3-Säuglingsmilch und Zwiebackbrei als typische Beispiele aufgezeigt ist.

Tabelle 27 Einfluß von Lagerungszeit und Verpackung auf den Vitamin C-Gehalt

Produkt /Verpackung	Vitamin C-Gehalte in mg/100 g					Tage Lagerung
	0	30	60	90	120	
2/3-Säuglingsmilch						
Verpackung: APPE		46,19	44,56	40,84	37,69	
Verpackung: PENAP	48,22	43,81	25,69	17,11	7,97	
Zwiebackbrei						
Verpackung: APPE		30,00	28,50	27,25	25,25	
Verpackung: PENAP	33,38	30,00	20,50	18,25	11,26	

Wie zu ersehen ist, ist die Abnahme von der Verpackung abhängig. Der stärkere Verlust an Vitamin C bei PE-Natronpapier-Verpackung ist der erhöhten Sauerstoff-Durchlässigkeit dieser Verpackung zuzuschreiben, was zu einem verstärkten oxydativen Abbau führt. Die Verluste an Vitamin C nach 4-monatiger Lagerungszeit für sämtliche untersuchten Produkte sind in Tabelle 28 zusammengestellt.

Tabelle 28

Verluste an Vitamin C nach 4-monatiger Lagerungszeit
unter akzelerierten Bedingungen

Produkt	Prozentuale Abnahme bei Verpackung :	
	APPE	PENAP
ASM	30,5	89,6
TASM	48,6	66,2
2/3 SM	21,8	83,5
2/3 SM - H	36,5	65,3
FRÜB	17,0	36,4
ZWIB	24,4	66,3
SCHOB	69,8	72,5
GRIB	22,9	35,6
ORAB	40,4	71,1

5. Veränderung der Fettsäuren-Zusammensetzung während der Lagerung

a) Veränderung der Fettsäuren in Triglyceriden

Mit Hilfe der angewandten Methodik konnte keine signifikante Veränderung der prozentualen Zusammensetzung der aus Triglyceriden gewonnenen Fettsäure-Methylester im Laufe der Lagerung beobachtet werden. Zwar scheint sich aufgrund der ermittelten Daten ein Rückgang des Buttersäure-, Capronsäure- und Linolsäuregehaltes abzuzeichnen, die statistische Überprüfung mittels t-Test für abhängige Variable, mit dessen Hilfe die Ausgangswerte und die nach 4-monatiger Lagerung ermittelten Gehalte dieser Fettsäuren für alle untersuchten Produkte verglichen wurden, ergab jedoch t-Werte, die unter der Signifikanzgrenze von 95 % liegen. Es ist allerdings nicht auszuschließen, daß geringfügige Änderungen zwar vorhanden sind, mit der beschriebenen analytischen Methodik jedoch nicht erfaßt werden konnten.

b) Veränderungen der freien Fettsäuren (FFS)

Das gaschromatographisch ermittelte Spektrum der Methylester der FFS zeigt Ähnlichkeit mit dem Spektrum der Methylester aus Triglyceriden. Auffällig ist jedoch der relativ geringe Anteil kurzkettiger Fettsäuren zugunsten einer deutlichen Erhöhung des Linolsäuregehaltes. Beim Vergleich der prozentualen Zusammensetzung der FFS am Anfang und am Ende der Lagerung werden einige Veränderungen erkennbar. In Tabelle 29 sind die relativen Zu- bzw. Abnahmen der einzelnen FFS zusammengestellt. Dabei wurden die für jedes untersuchte Produkt erhaltenen Einzelergebnisse für jede FFS zu Gesamt-Mittelwerten zusammengefaßt. Dieses Verfahren erschien zweckmäßig, da die Fettkombination aller untersuchten Produkte aus einer Mischung von Milch- und Pflanzenfett besteht und durch die übrigen Rezepturbestandteile keine unterschiedliche Beeinflussung zu erwarten ist.

Tabelle 29

Mittlere Veränderungen des Spektrums freier Fettsäuren nach 4-monatiger Lagerung in Abhängigkeit von der Verpackung

Fettsäure	Veränderung (in %) bezogen auf die Gesamtheit der FFS				Statistische Sicherung der absoluten Differenzen mittels t-Test	
	bei APPE-Verp.		bei PENAP-Verp.		bei APPE	bei PENAP
	abs. %	rel. %	abs. %	rel. %		
Buttersäure	-	-	-	-	-	-
Capronsäure	- 0,01	- 0,9	+ 0,01	+ 0,9	0,06	0,07
Caprylsäure	+ 0,02	+ 2,2	+ 0,04	+ 3,7	0,06	0,45
Caprinsäure	+ 0,02	+ 1,3	- 0,03	- 2,3	0,13	0,26
Laurinsäure	+ 0,04	+ 0,9	+ 0,19	+ 0,5	0,10	0,59
Myristinsäure	+ 2,08	+46,4	+ 2,16	+48,0	3,58 **	3,87 **
Palmitinsäure	- 0,15	- 0,5	+ 0,20	+ 0,6	0,16	0,18
Stearinsäure	+ 0,12	+ 1,6	+ 0,14	+ 1,8	0,25	0,25
Ölsäure	- 1,37	- 4,7	- 1,32	- 4,5	1,61	1,31
Linolsäure	- 2,73	-13,7	- 4,10	-20,6	2,37 *	2,97 *
Linolensäure	+ 0,23	+10,6	+ 0,19	+ 8,7	0,69	0,62

Wie aus Tabelle 29 ersichtlich ist, sind bei zwei Fettsäuren signifikante Veränderungen im Laufe der Lagerung nachweisbar. Es zeigt sich ein gesicherter Rückgang des relativen Linolsäuregehaltes, der durch die große Reaktionsfreudigkeit dieser Fettsäure bedingt ist. Auf die möglichen Reaktionswege und Abbauprodukte von Linolsäure wurde bereits im methodischen Teil verwiesen (S.44). Der Verlust der Linolsäure ist im Falle der nicht Sauerstoff-dichten PE-beschichteten Natronpapier -Verpackung erwartungsgemäß größer, da es sich bei diesem Abbau im wesentlichen um oxydative Vorgänge handelt. Der Abbau der Linolsäure führt über Hydroperoxyde zu einer ganzen Reihe intensiv riechender Carbonylverbindungen. Die bei der sensorischen Untersuchung festgestellten negativen Veränderungen, die bei den in PE-Natronpapier gelagerten Proben deutlicher hervortraten, stehen mit diesem Ergebnis in Einklang. Bei der Ölsäure zeichnen sich ebenfalls Verluste ab, die jedoch statistisch nicht gesichert werden konnten. Die gefundenen t-Werte liegen jedoch deutlich höher als bei den meisten anderen Fettsäuren, so daß hieraus abgeleitet werden kann, daß in diesem Fall die größere Wahrscheinlichkeit einer Veränderung gegeben ist.

Die Zunahme des relativen Gehaltes an Myristinsäure ist statistisch signifikant. Es darf jedoch nicht übersehen werden, daß es sich bei der Auswertung um eine 100 %-Methode handelt, wobei die Erniedrigung einer Komponente automatisch die Erhöhung anderer Komponenten bedingt.

Der absolute Gehalt freier Fettsäuren, bezogen auf das Gesamtfett, wurde einerseits gaschromatographisch aus der bekannten Menge der zugesetzten Önanth- und Margarinsäure errechnet, zum anderen durch Titration mit 0,1 n-Kalilauge im Gesamtfett bestimmt. Es zeigte sich in allen Fällen nach Beendigung der Lagerung eine deutliche Erhöhung des Anteils freier Fettsäuren am Gesamtfett. Diese Erhöhung ist abhängig von der Art der Verpackung. Während im Falle der Alu-Papier-PE-Verpackung ein Anstieg um ca. 30 % beobachtet wurde, zeigt sich bei den in PE-Natronpapier verpackten Produkten eine Erhöhung von 40 - 70 %. Die Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten kann darin gesucht werden, daß die Geschwindigkeit der Hydrolyse der Triglyceride, die zur Freisetzung von Fettsäuren führt, als Ionen-Reaktion vom Wassergehalt abhängt. Wie bereits früher festgestellt (Tab. 25), sind die Wassergehalte der in PE-Natronpapier gelagerten Proben nach Beendigung der Lagerung deutlich gegenüber den in Alu-Papier-PE verpackten Produkten erhöht.

6. Gaschromatographische Analyse der isolierten Aromakonzentrate

Bei den sensorischen Prüfungen der unter akzelerierten Bedingungen gelagerten Produkte zeigten sich in allen Fällen, trotz Verschiedenheit der Zusammensetzung, gleichartige typische sensorische Abweichungen. Diese Geruchs- und Geschmacksveränderungen zeigen sich nach einer Lagerzeit von 2 - 3 Monaten in einer caramelartigen Note, später tritt hierzu eine brandig-bittere und eine an „nasse Pappe“¹ erinnernde Komponente. .

Es lag daher nahe, in den Chromatogrammen der gewonnenen Aromaeextrakte nach Komponenten zu suchen, die bei allen untersuchten Produkten auftreten und die sich im Verlauf der Lagerung in charakteristischer Weise ändern. Am Beispiel der adaptierten Säuglingsmilch ist in Abb. 17 dargestellt, in welcher Weise sich die Aromakomponenten im Laufe der Lagerung verändern.

Die adaptierte Säuglingsmilch wurde zur Darstellung der gaschromatographisch erfaßbaren Aromaveränderungen als Modellfall herausgegriffen, weil es sich dabei um ein Produkt handelt, welches keine Rezepturbestandteile wie Honig, Fruchtpulver oder Schokolade enthält, deren flüchtige Inhaltsstoffe als zusätzliche Peaks in Erscheinung treten. Bei allen untersuchten Produkten zeigten sich die gleichen typischen Veränderungen im Chromatogramm: zu Beginn der Lagerung sind die Peaks Nr. 38 und 40 kaum oder nicht vorhanden und treten mit zunehmender Lagerungszeit immer deutlicher hervor, während der dazwischenliegende Peak Nr. 39 konstant bleibt. Eine weitere Komponente, die während der Lagerung anwächst, ist der Peak Nr. 21. Im Falle des Peaks Nr. 5 dagegen ist eine deutliche Abnahme zu beobachten. Die übrigen gaschromatographisch erfaßten Aromasubstanzen verändern ihren Gehalt praktisch nicht. Es kann daher angenommen werden, daß die sich im Verlaufe der Lagerung verändernden Aromapeaks für die Veränderung des sensorischen Eindrucks direkt verantwortlich sind oder damit in Beziehung stehen. Es wurden daher Versuche unternommen, die Struktur oder die Verbindungsklasse einiger Aromasubstanzen aufzuklären.

¹ Bei der Lagerung bei Raumtemperatur treten nach einer Lagerzeit von etwa 3 Jahren ähnliche sensorische Veränderungen auf. Zusätzlich wurde in seltenen Fällen eine fischig-tranige Note beobachtet.

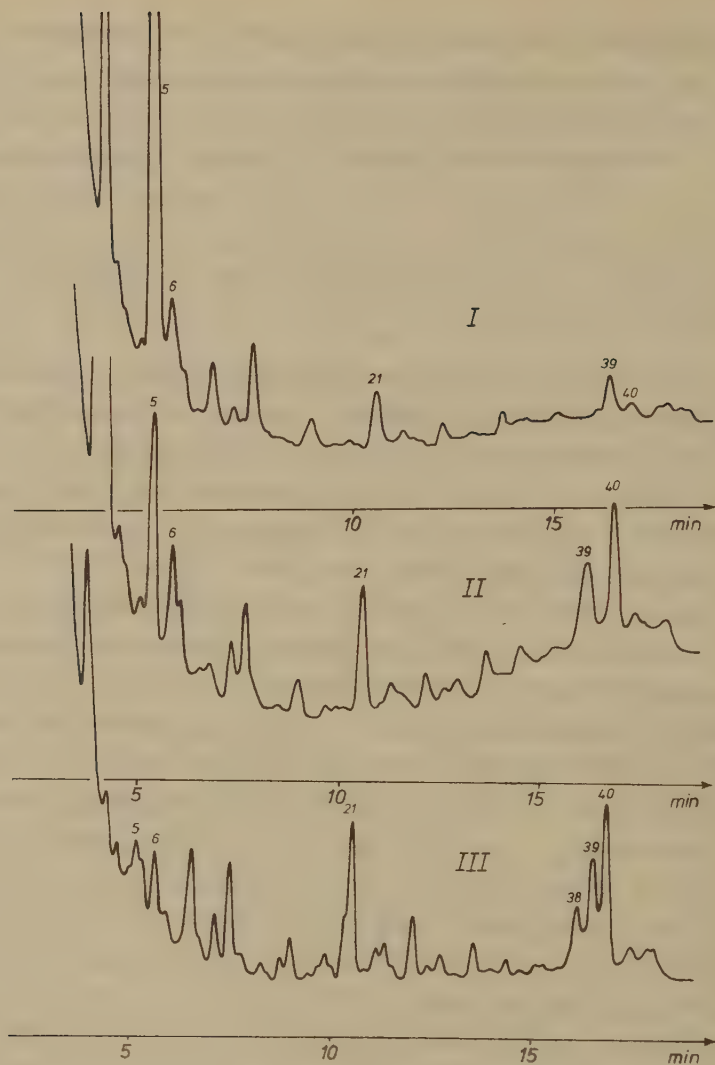


Abbildung 17

Chromatogramme der Aromasubstanzen
aus der adaptierten Säuglingsmilch.

I, ungelagerte Probe. II, nach 2 Monaten Lagerungszeit.
III, nach 4 Monaten Lagerungszeit.

7. Versuche zur Identifizierung einiger gaschromatographisch erfaßbarer Aromasubstanzen

a) Gruppenreaktionen

Das gewonnene Aromakonzentrat wurde mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Lösung von Natriumpyrosulfit versetzt und bei Raumtemperatur geschüttelt. Chromatogramme des aus der adaptierten Säuglingsmilch gewonnenen Aroma-Konzentrats vor, eine Stunde nach, und 48 Stunden nach der Zugabe der Pyrosulfit-Lösung sind in Abb. 18 zusammengestellt. Natriumpyrosulfit bildet mit Aldehyden Additionsverbindungen, die in der Aromastoff-Pentan-Phase unlöslich sind und deshalb ausfallen. Substanzen mit Aldehyd-Funktionen müssen daher aus dem Aroma-Chromatogramm verschwinden. Wie Abb. 18 zeigt, geht nach einer Stunde Reaktionsdauer zuerst der Peak Nr. 6 zurück. Nach 48 Stunden Reaktionszeit ist der Peak Nr. 6 vollständig verschwunden, die Peaks Nr. 13, 29, 38 und 40 sind stark verkleinert bzw. nicht mehr vorhanden. Es kann daher angenommen werden, daß es sich bei diesen Substanzen um Aldehyde handelt.

Die verschiedenen Reaktionszeiten bis zum Verschwinden der „Aldehyd-Peaks“ sind durch unterschiedliche Molekülgröße und unterschiedliche Hydrophobie, d. h. Wasserlöslichkeit zu erklären. So sind kurzkettige Aldehyde wie Formaldehyd und Acetaldehyd wasserlöslich, während längerkettige Aldehyde von wachsähnlicher Konsistenz sind. Bei Peak Nr. 6 handelt es sich, erkennbar an der kurzen Retentionszeit, offenbar um eine niedermolekulare Verbindung, deren hydrophober Charakter zu gering ausgeprägt ist, um die Reaktion der hydrophilen Aldehyd-Funktion mit der wässrigen Natriumpyrosulfit-Phase nachhaltig zu behindern. Mit zunehmender Zahl von CH_2 -Gruppen überwiegt der hydrophobe Charakter die hydrophile Aldehyd-Funktion immer mehr und die Umsetzung mit Natriumpyrosulfit verläuft langsamer, so daß daraus gefolgert werden kann, daß es sich bei den Peaks Nr. 29, 38 und 40 um längerkettige Aldehyde handelt.

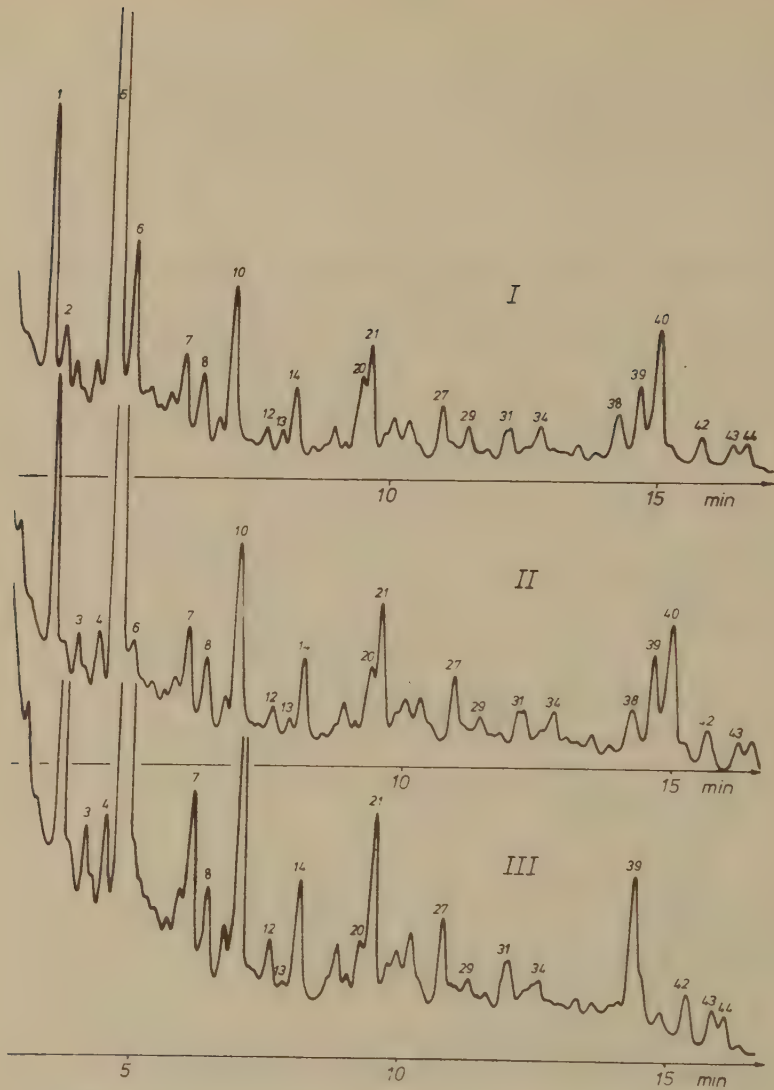


Abbildung 18

Chromatogramme der Aromasubstanzen
aus der adaptierten Säuglingsmilch.

I. vor der Reaktion, II. 1 Std. nach, III. 48 Std. nach der
Reaktion des Aromakonzentrates mit Natriumprosulfit.

Die Gruppenreaktion mit Lithiumborhydrid in ätherischer Lösung, die durch Hydrierung der Aldehyd-Funktion ebenfalls zur Ausscheidung der Aldehyde führt, brachte gleiche Ergebnisse.

Durch Testen verschiedener Vergleichssubstanzen konnte aufgrund der gaschromatographischen Retentionszeiten unter verschiedenen Arbeitsbedingungen der Peak Nr. 6 als Hexanal, der Peak Nr. 29 als Benzaldehyd identifiziert werden.

b) Identifizierung durch Massenspektrometrie

Der aus der 4 Monate gelagerten adaptierten Säuglingsmilch gewonnene Aromaextrakt wurde gaschromatographisch getrennt, die Molekülbruchstücke der einzelnen Substanzen wurden in einem gekoppelten Massenspektrometer registriert ¹.

Die Untersuchungen wurden an einem GC-MS-System der Fa. Varian Typ Mat CH 7 unter folgenden Bedingungen durchgeführt:

Trennsäule:	Edelstahl, 5 m x 1/8"
Stationäre Phase:	Chromosorb 80/100 mesh
Trennflüssigkeit:	Polyäthylenglycol 20 M
Trärgas:	Stickstoff, 15 ml/min
Säulentemperatur:	70 °C bis 220 °C mit 6°C/min Temperatursteigerung
Elektronenvolt:	70
Temperatur der Ionenquelle:	230 °C

¹ Herrn Prof. Dr. Severin, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München, danke ich an dieser Stelle für die Möglichkeit, diese Untersuchungen an seinem Institut durchzuführen. Herrn Dr. Franz Ledl danke ich für die Aufnahme der Massenspektren.

Durch die Auswertung der aufgezeichneten Massenspektren, durch Gruppenreaktion und durch gaschromatographischen Vergleich mit Reinsubstanzen, konnten folgende flüchtige Verbindungen identifiziert werden:

Peak-Nr.	Verbindung	Massenspektrum m/e	Molekulargewicht
5	Toluol	91, 92, 65, 93, 63, 51	92
6	n-Hexanal	44, 41, 56, 29, 57, 43	100
10	Dimethylbenzol	106, 91, 105, 77, 65, 51	106
13	n-Heptanal	43, 29, 58, 41, 71, 57	114
14	Terpen	93, 136, 121, 79, 77, 92	136
20	Tridecan	57, 43, 71, 41, 29, 85	184
29	Benzaldehyd	77, 106, 105, 81, 51, 67	106

Bei Hexanal, Toluol und Benzaldehyd konnte die Anwesenheit dieser Verbindungen durch gaschromatographischen Vergleich mit den entsprechenden Reinsubstanzen gesichert werden. Bei Dimethylbenzol und Terpen konnte aufgrund des Massenspektrums nicht festgelegt werden, um welche der verschiedenen möglichen Isomeren es sich dabei handelt.

Desweiteren konnten höhere Vertreter der homologen Alkan-Reihe, Alkanale, Alkanone, freie Fettsäuren und Fettsäureäthylester nachgewiesen werden. Eine Zuordnung dieser Verbindungen zu entsprechenden Peaks in den Abb. 17 und 18 ist jedoch hierbei nicht eindeutig möglich, da die gaschromatographischen Trennbedingungen bei der Aufnahme der Massenspektren etwas abweichend waren.

Die gefundenen aromatischen Verbindungen wurden auch in den natürlichen Aromen anderer Lebensmittel nachgewiesen. So fanden FERRETTI und FLANAGAN (107, 108) Benzaldehyd, Phenol und Benzylalkohol in gebräuntem Molkenpulver, SCHORMÜLLER und KOCHMANN (110) wiesen Benzol, Toluol, Dimethylbenzol und Benzaldehyd in Tomaten nach. Aliphatische Carbonylverbindungen und Alkane finden sich praktisch in allen fetthaltigen Lebensmitteln, wobei diese Verbindungen im wesentlichen der Fettoxydation entstammen.

In dem Bereich des Chromatogramms, wo im Verlaufe der Lagerung die deutlichsten Veränderungen auftraten, nämlich bei Peak Nr. 38 und 40, konnten bei der Auswertung der Massenspektren keine Hinweise auf aromatische Verbindungen gefunden werden. Vielmehr fanden sich die typischen Bruchstücke aliphatischer Carbonylverbindungen. Dieser Befund deckt sich mit dem Ergebnis der Gruppenreaktion des Aromakonzentrats mit Natriumpyrosulfit, wonach die Peaks Nr. 38 und 40 als Aldehyde identifiziert wurden. Es kann also als sicher angenommen werden, daß es sich bei den Peaks Nr. 38 und 40, die ein deutliches Anwachsen im Verlauf der Lagerung zeigen, um langkettige aliphatische Aldehyde handelt. Diese Verbindungsklasse weist intensiven, unangenehmen Geruch auf, was mit dem zunehmend negativen Geruchseindruck der gelagerten Proben in Einklang steht.

Heterozyclische Verbindungen, wie z. B. Hydroxymethylfurfural und andere Furan-Derivate, die von FERRETTI und FLANAGAN (107, 108) in gebräuntem Molkenpulver nachgewiesen wurden, konnten wegen ihrer Schwerflüchtigkeit unter den angegebenen gaschromatographischen Bedingungen nicht nachgewiesen werden.

Die Frage nach Herkunft und Entstehung der gefundenen Aromasubstanzen soll an dieser Stelle nicht näher diskutiert werden. Da es sich bei der speziell untersuchten adaptierten Säuglingsmilch um ein Produkt handelt, welches außer Lactose, Milcheiweiß, Milchfett und Pflanzenfett keine weiteren Rezepturbestandteile enthält, müssen die gebildeten Aromasubstanzen aus diesen Komponenten entstanden sein.

Aliphatische Carbonylverbindungen können aus dem Aminosäuren-Abbau und aus der Oxydation ungesättigter Fettsäuren entstanden sein. Für die Bildung aromatischer Verbindungen kommt in erster Linie der Abbau aromatischer Aminosäuren in Betracht.

IV. DISKUSSION

Am Beispiel der Lagerversuche von Säuglingsnährmitteln auf Trockenbasis wurden Möglichkeiten der Objektivierung bei der sensorischen Beurteilung untersucht. Bei den angewandten extremen Lagerbedingungen konnten während eines relativ kurzen Zeitraums Veränderungen verfolgt werden, deren Beobachtung sich sonst über Jahre erstreckt hätte.

Bei der sensorischen Prüfung dieser Produkte, wobei es zunächst um die Frage ging, nach welcher Lagerzeit erste Veränderungen feststellbar sind, wurde eine weiterentwickelte Form des Duo-Trio- bzw. des Triangeltests angewandt. Diese als Tetraden-Test bezeichnete Prüfung zeichnet sich gegenüber anderen Unterschiedsprüfungen durch größere Aussagefähigkeit aus. Die Wahrscheinlichkeit, das richtige Ergebnis durch Raten zu erhalten, ist bei den meisten Unterschiedsprüfungen 50 %, bei Triangeltest 33,3 %, beim Tetraden-Test jedoch nur 16,7 %. Dies bedeutet bei gleicher Prüferzahl eine Erhöhung der Aussagegenauigkeit, bzw. zur statistischen Sicherung eines Unterschiedes sind weniger Prüfungsdurchgänge erforderlich. Bei der statistischen Untersuchung von Fehlurteilen, die bei der Anwendung des Tetraden-Tests über einen längeren Zeitraum gesammelt wurden, konnte keine Bevorzugung einer bestimmten Probe oder Probengruppe beim Fehlen eines echten sensorischen Unterschiedes beobachtet werden. Diese Feststellung ist deshalb wichtig, weil der zur statistischen Auswertung der Ergebnisse von Unterschiedsprüfungen üblicherweise herangezogene χ^2 -Test auf einer zufälligen Verteilung der Fehlurteile basiert.

Darüber hinaus ist es möglich, anhand der Einzelergebnisse jedes Prüfers durch die Berechnung eines Beurteilungsquotienten zu einem objektiven Bild über dessen Fähigkeiten zu gelangen. Bei der Berechnung dieses Beurteilungsquotienten wird der Schwierigkeitsgrad der einzelnen Prüfungen mit einbezogen.

Die Kenntnis der Qualifikationen jedes einzelnen Prüfers ist für die Auswahl geeigneter Prüfpersonen und damit zur Erhöhung der Prüfungsgenauigkeit unerlässlich. Vergleicht man die Höhe des errechneten Beurteilungsquotienten und die Schwellenwerte der vier Hauptgeschmacksrichtungen, so zeigt sich insofern ein Zusammenhang, als extrem schlechte Prüfpersonen (mit niedrigem Beurteilungsquotienten) und besonders gute Prüfer sich auch durch besonders hohe oder besonders niedrige Schwellenwerte auszeichnen. Der Tetraden-Test stellt somit hinsichtlich seiner Prüfungsaussagen eine Objektivierung der sensorischen Unterschiedsprüfung dar.

Bei der Beurteilung der Größe sensorischer Veränderungen kann durch Verwendung eines sensorischen Standards die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bedeutend verbessert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde das Verfahren des sogenannten Hilfsstandards, einer Probe, deren Beurteilung vor der Prüfung gemeinsam festgelegt und die dann ohne Wissen der Prüfer nochmals beurteilt wird, erprobt. Es kann als Ergebnis festgehalten werden, daß dieses Verfahren bei längerer Anwendung keineswegs der Objektivierung dient, sondern im Gegenteil einen negativen Einfluß auf die Objektivität der Beurteilung ausübt, wenn das System von den Prüfern erkannt wird. Das Verfahren wurde dahingehend modifiziert, daß die sensorisch beste Probe (im vorliegenden Fall die ungelagerte Probe) als Hilfsstandard von vornherein mit der Höchstpunktzahl belegt wurde und die übrigen zu beurteilenden Proben an dieser Referenzprobe gemessen wurden. Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse zeichnen sich durch geringe Varianz aus. Das zur Beurteilung herangezogene 5-Punkte DLG-Schema wurde so modifiziert, daß eine gleichmäßige Verteilung der Abstände zwischen den einzelnen Notenstufen über die ganze Skalenbreite gegeben war. Die auf diese Weise erhaltenen Meßwerte konnten wie mathematische Größen behandelt und statistisch ausgewertet werden.

Die sensorische Beurteilung der untersuchten Produkte konnte somit sowohl bei der qualitativen Feststellung erster sensorischer Unterschiede durch die Anwendung des Tetraden-Tests wie auch bei der quantitativen Erfassung sensorischer Veränderungen durch Modifizierung des DLG-Schemas objektiviert werden. In beiden Fällen wurde zur Sicherung und Interpretation der Befunde eine statistische Auswertung der Prüfungsergebnisse angeschlossen.

Durch die Bestimmung einer Reihe chemischer Parameter wurde der Versuch unternommen, objektiv meßbare Größen zu finden, die mit den sensorischen Befunden in Zusammenhang stehen, so daß auf diese Weise eine zusätzliche Absicherung sensorischer Befunde erreicht werden kann. In der vorliegenden Arbeit waren dies im wesentlichen chemisch erfaßbare Substanzen, von denen angenommen werden konnte, daß sie sich im Verlauf der Lagerung verändern. Mikrobielle oder enzymatische Veränderungen der untersuchten Produkte waren aus technologischen Gründen von vornherein auszuschließen, so daß als mögliche Verderbsreaktionen bei den angewandten Lagerbedingungen die nicht enzymatische Bräunung und die Autoxydation in Frage kamen.

Die Abnahme von Vitamin C kann als empfindlicher Indikator für oxydative Vorgänge angesehen werden. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß der Abbau von Vitamin C parallel zum Verlust sensorischer Qualität verläuft. Ascorbinsäure ist in der in Frage kommenden Konzentration zwar nicht am Geschmacksbild beteiligt, spiegelt jedoch in der Geschwindigkeit ihres Abbaus die Stärke oxydativer Reaktionen wieder, die auch zur Ausbildung unerwünschter Geruchs- und Geschmackssubstanzen führen.

Eine für die Maillard-Reaktion typische Erscheinung ist der Abbau freier Aminosäuren. Ihre Umsetzung mit Abbauprodukten aus Kohlehydraten führt einerseits zu Amadori-Umlagerungsprodukten und zum anderen nach Decarboxylierung und Desaminierung zu den entsprechenden Aldehyden.

Die gaschromatographische Untersuchung der in den Produkten enthaltenen (und im Verlauf der Lagerung gebildeten) Aromasubstanzen zeigte bei allen untersuchten Produkten typische und gleichartige Veränderungen der beobachteten Chromatogramme im Verlauf der Lagerung. Die Analyse dieser neugebildeten bzw. „anwachsenden“ Aromasubstanzen durch Gruppenreaktion und Massenspektrometrie ergab, daß es sich dabei um langkettige Aldehyde handelt. Mittelkettige Aldehyde, nämlich n-Hexanal und n-Heptanal konnten ebenfalls nachgewiesen werden, jedoch zeigten sie kein stetiges Anwachsen im Verlauf der Lagerung. Die Anwesenheit dieser Verbindungen ist nicht überraschend, da aus der Oxydation ungesättigter Fettsäuren eine Reihe verschiedener Carbonylverbindungen entsteht. So wurde Hexanal und Heptanal auch in frischen Tomaten (110), Hexanal in gelagertem Orangensaft (111) und gelagertem Kartoffelpulver (112) nachgewiesen. Längerkettige Carbonylverbindungen zeichnen sich durch unangenehmen Geruch und niedrige Schwellenwerte aus. Anhand der durchgeführten eigenen Untersuchungen kann festgestellt werden, daß die stetige Zunahme gewisser langkettiger Aldehyde mit der Abnahme der sensorischen Qualität in Zusammenhang steht, jedoch nicht, ob diese Verbindungen allein für die Entstehung des typischen Geschmacksbildes einer überlagerten Probe verantwortlich sind. Es ist nicht auszuschließen, daß Substanzen in geringer Konzentration, die bei der angewandten Methodik nicht nachweisbar sind, bei der Entstehung der Geschmacksveränderung mitwirken oder sogar die typischen Aromaträger sind. Der sensorische Eindruck überlagelter Proben, der als „caramelartig, verbrannt, nach nasser Pappe“ beschrieben werden kann, ist mit Sicherheit nicht auf die Anwesenheit einer einzigen Verbindung zurückzuführen, sondern entsteht durch Zusammenwirken mehrerer Komponenten.

Betrachtet man die erfaßten chemischen Parameter in Hinblick auf ihre Eignung, die sensorischen Befunde zu objektivieren, so zeigt sich, daß der Hydroxymethylfurfuralgehalt offenbar einen engen Zusammenhang zum sensorischen Eindruck aufweist. Auch bei Vitamin C konnte eine deutliche Beziehung zwischen Gehalt und Lagerungszeit beobachtet werden.

Für die Beziehung zwischen dem HMF-Gehalt und den sensorischen Befunden ergeben sich bei der 2/3-Säuglingsmilch, bei der 2/3-Säuglingsmilch mit Honig, beim Fruchtebrei und beim Zwiebackbrei statistisch signifikante Korrelationen, während bei den anderen untersuchten Produkten kein gesicherter Zusammenhang besteht. Als zwei extreme Beispiele seien die ermittelten Korrelations-Koeffizienten bei 2/3-Säuglingsmilch mit Honig und Fruchtebrei herausgestellt:

Produkt	Korrelations-Koeffizienten zwischen HMF-Gehalt und			
	Geruch	Geschmack	Farbe	Konsistenz
2/3 SM-H	+ 0,89 *	+ 0,91 *	+ 0,97**	+ 0,93 *
FRÜB	- 0,98 **	- 0,96 **	- 0,97**	- 0,95 *

Die angegebenen Korrelations-Koeffizienten beziehen sich auf die in Alu-Papier-Polyäthylen-Folie verpackten Produkte. Die Korrelations-Koeffizienten für die in Polyäthylen-beschichtetem Natronpapier gelagerten Proben liegen in der gleichen Größenordnung. Wie die Ergebnisse zeigen, kann die Korrelation sowohl positive als auch negative Werte annehmen, d. h. sowohl die Zunahme des HMF-Gehaltes als auch dessen Abnahme können mit einer sensorischen Qualitätseinbuße gekoppelt sein. Dies bedeutet, daß die Umsetzung von HMF, sei es Entstehung, sei es Abbau, mit der Bildung unerwünschter Geruchs- und Geschmacksstoffe verbunden sein kann. HMF ist demnach nicht selbst unmittelbar an der Entstehung des Geschmacksbildes beteiligt, sondern ist Zwischenprodukt einer Reaktionskette, die zur Entwicklung sensorisch wirksamer Substanzen führt. Dies kann auch aus der Korrelation zwischen HMF und Farbe abgeleitet werden; denn die Reaktion von HMF mit anderen Maillard-Zwischenprodukten führt in weiteren Reaktionsschritten zur Ausbildung gefärbter Melanoidine.

Die Regressionskoeffizienten der gleichen beiden Produkte, 2/3-Säuglingsmilch mit Honig und Früchtebrei lauten:

Produkt	Regressionskoeffizienten zwischen HMF-Gehalt ($10 \mu \text{ Mol/kg}$) und			
	Geruch	Geschmack	Farbe	Konsistenz
2/3 SM-H	+ 0,3	+ 0,4	+ 0,2	+ 0,2
FRÜB	- 0,6	- 0,6	- 0,4	- 0,2

Da nicht bei allen untersuchten Produkten eine gesicherte Korrelation zwischen HMF-Gehalt und sensorischem Befund ermittelt werden kann, bedeutet dies, daß eine Veränderung im HMF-Gehalt eines Produktes nicht unbedingt mit einer negativen Veränderung der Qualität gleichzusetzen ist. Andererseits haben die Untersuchungen gezeigt, daß bei ein und demselben Produkt die Änderung des HMF-Gehaltes und parallel dazu der Verlust der sensorischen Qualität einmal stärker und einmal weniger stark ausgeprägt ist, je nachdem, in welcher Verpackung das betreffende Produkt gelagert wurde.

Man kann daraus ableiten, daß zwar der Absolutwert des HMF-Gehaltes für die sensorische Beurteilung ohne große Bedeutung ist, daß aber der Vergleich der HMF-Gehalte eines Produktes unter dem Einfluß verschiedener Verpackungsarten, Lagerungsbedingungen oder Lagerzeiten Rückschlüsse auf dessen sensorische Entwicklung zuläßt.

Zwischen dem gefundenen Vitamin C-Gehalt und der sensorischen Beurteilung besteht ebenfalls eine enge Beziehung. Die hierfür gefundenen Korrelationskoeffizienten lauten für 2/3 - Säuglingsmilch mit Honig und Früchtebrei:

Produkt	Korrelationskoeffizienten zwischen Vitamin C-Gehalt und			
	Geruch	Geschmack	Farbe	Konsistenz
2/3 SM-H	+ 0,82	+ 0,82	0,92	0,95 *
FRÜB	+ 0,87	+ 0,95 *	0,88 *	0,96 **

Die angegebenen Werte gelten für die in Alu-Papier-Polyäthylen verpackten Produkte. Die entsprechenden Korrelationskoeffizienten für die in Polyäthylen-beschichtetem Natronpapier gelagerten Proben sind zwar deutlich höher, jedoch ist der Unterschied statistisch nicht gesichert. Der Grund für die Differenz dürfte darin liegen, daß die Streuung der Untersuchungsergebnisse zwar in beiden Fällen gleich, der zahlenmäßige Abstand zwischen den einzelnen Meßwerten aber im Falle der PE-Natronpapier-Verpackung größer war.

Gemessen an diesen Ergebnissen könnte die Abnahme des Vitamin C-Gehaltes als Gradmesser für den Verlust sensorischer Qualität gewertet werden. Es darf jedoch nicht übersehen werden, daß diese Beziehung nur auf die im vorliegenden Fall untersuchten Produkte zutrifft und daß ein Verlust an Vitamin C auch durch Einflüsse wie Lichteinwirkung oder UV-Bestrahlung bedingt sein kann. Eine Abnahme des Ascorbinsäure-Gehaltes muß somit nicht zwangsläufig eine Einbuße an sensorischer Qualität bedeuten.

Insgesamt ergibt sich, daß eine quantitative Zuordnung zwischen sensorischem Eindruck und den untersuchten chemischen Parametern und damit ein Ersetzen der sensorischen Prüfung durch chemische Methoden nicht ohne weiteres möglich ist. Die Erfassung chemisch meßbarer Größen kann jedoch zur Ergänzung und Absicherung sensorischer Untersuchungen herangezogen werden. Die optimale Möglichkeit zur Objektivierung sensorischer Untersuchungen besteht derzeit im Einsatz aussagefähiger Prüfmethoden, Prüferauslese und Standardisierung des Prüfungsablaufs, und in der Anwendung geeigneter statistischer Verfahren zur Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchungen beschäftigten sich mit sensorischen und chemischen Veränderungen, die bei der Lagerung von Säuglingsnährmitteln auf Trockenbasis unter extremen Bedingungen entstehen. Auf diese Weise konnten in vier Monaten Veränderungen beobachtet werden, die in ähnlicher Form erst nach einer Lagerungszeit von ca. 3 Jahren bei Raumtemperatur entstehen.

Dabei wurden sensorische Untersuchungsverfahren erprobt und objektiviert. Parallel zu den sensorischen Prüfungen wurden chemische Parameter untersucht und auf Zusammenhang zum sensorischen Befund überprüft.

1. Eine als Tetraden-Test bezeichnete Form der sensorischen Unterschiedsprüfung, die als Weiterentwicklung des Triangeltests, bzw. des Duo-Trio-Tests bezeichnet werden kann, wurde in der Anwendung erprobt.
2. Die Verteilung der Fehlurteile, die bei der Anwendung des Tetraden-Tests beobachtet wurden, unterscheidet sich statistisch nicht von der Zufallsverteilung, so daß eine korrekte Auswertung der Ergebnisse des Tetraden-Tests mittels χ^2 -Test möglich ist.
3. Aus den Ergebnissen jedes sensorischen Prüfers bei Prüfungen mit dem Tetraden-Test läßt sich ein Beurteilungsquotient errechnen, der ein objektives Bild der Fähigkeiten des Prüfers gibt.
4. Das DLG-Schema wurde für die eigenen Untersuchungen dahingehend modifiziert, daß der Abstand zwischen zwei benachbarten Wertmalen über die ganze Skalenbreite gleich war. Die Ergebnisse aus der Anwendung dieses veränderten Schemas konnten wie mathematische Größen behandelt und statistisch ausgewertet werden.

5. Durch die Einführung einer Standard-Probe mit festgelegter Höchstpunktzahl konnte die sensorische Qualitätsprüfung weiter objektiviert werden.
6. Während der Lagerung unter akzelerierten Bedingungen nimmt die sensorische Qualität der untersuchten Produkte stetig ab.
7. Eine Verpackung mit höherer Sauerstoff- und Wasserdampfdurchlässigkeit hat einen ungünstigen Einfluß auf die Lagerfähigkeit.
8. Die Zusammensetzung der untersuchten Produkte hat keinen Einfluß auf die sensorische Beurteilung.
9. Die Zusammensetzung der Produkte hat einen gesicherten Einfluß auf das Lagerverhalten. Die Anwesenheit von Säure und Monosacchariden führt zur beschleunigten Entwicklung sensorischer Veränderungen.
10. Freie Aminosäuren und freie Fettsäuren zeigen deutliche Abnahmen im Verlauf der Lagerung.
11. Die prozentuale Zusammensetzung der Triglyceride bleibt unverändert.
12. Der Hydroxymethylfurfuralgehalt steht mit der sensorischen Qualitätsveränderung in Zusammenhang. Sowohl starke Zunahme wie starke Abnahme des HMF-Gehaltes sind mit deutlichen sensorischen Veränderungen verbunden.

13. Der Vitamin C-Gehalt nimmt während der Lagerung ab. Sauerstoff- und Wasserdampfdurchlässigkeit der Verpackung üben dabei, wie auch auf die sensorische Qualität, einen ungünstigen Einfluß aus.
14. Während der Lagerungszeit tritt eine Erniedrigung der pH-Werte der untersuchten Produkte ein.
15. Die gaschromatographische und massenspektrometrische Untersuchung der aus den gelagerten Proben gewonnenen Aromastoffe ergab, daß es sich bei den im Verlauf der Lagerung neugebildeten Substanzen um langkettige aliphatische Aldehyde handelt.

- | | | |
|----|--|--|
| 1 | HABERSAAT, F. C. | Die Ernährungswirtsch. /Lebensmittel-
technik <u>8</u> , 602 (1970) |
| 2 | TATEDA, H.,
BEIDLER, L. M., | J. Gen. Physiol. <u>47</u> , 479 (1964) |
| 3 | HERRMANN, J. | Die Nahrung <u>15</u> , 827 (1971) |
| 4 | McNAMARA, B. P.,
DANKER, W. H. | in ASTM Spec. Techn. Publ. 443:
Basic Principles of Sensory Evaluation.
American Society for Testing Materials,
Philadelphia/Pa. (1969) |
| 5 | PLATTIG, K. -H. | in OHLOFF, G., THOMAS, A. F.:
Gustation and Olfaction.
Academic Press London and
New York (1971) |
| 6 | DASTOLI, F. R.,
PRICE, S. | Science <u>154</u> , 905 (1966) |
| 7 | DASTOLI, F. R.,
LOPIEKES, D. N. | Nature <u>218</u> , 844 (1968) |
| 8 | DASTOLI, F. R.,
LOPIEKES, D. N.,
PRICE, S. | Biochemistry <u>7</u> , 1160 (1968) |
| 9 | DASTOLI, F. R. | Sci. Technol. March. 42 (1968) |
| 10 | HERRMANN, J.,
POESCHEL, W. | Die Nahrung <u>17</u> , 811 (1973) |
| 11 | ROSENBERG, B.
MISRA, T. N.,
SWITZER, R. | Nature <u>217</u> , 423 (1968) |
| 12 | MISRA, T. N.,
ROSENBERG, B.,
SWITZER, R. | J. Chem. Physics <u>48</u> 2096 (1968) |
| 13 | MOULTON, D. G. | in OHLOFF, G., THOMAS, A. F.:
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971) |

- 14 RANDEBROCK, R. E. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F. :
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971)
- 15 MOULTON, D. G. J. Dairy Sci. 52, 811 (1969)
- 16 SHALLENBERGER, R. S.,
ACREE, T. E. J. Agric. Food Chem. 17, 701 (1969)
- 17 SHALLENBERGER, R. S.,
ACREE, T. E. Nature 216, 480 (1967)
- 18 SHALLENBERGER, R. S. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F. :
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971)
- 19 BELITZ, H. D. Alimenta 12, 137 (1973)
- 20 PFEIL, E. Chemie f. Labor u. Betrieb 1, 17 (1973)
- 21 BERG, C. P. Physiol. Rev. 33, 145 (1953)
- 22 NEY, K. H. Z. Lebensm. Untersuch. -Forsch.
147, 64 (1971)
- 23 MAYER, R.,
WITTIG, F. Z. Chem. 12, 91 (1972)
- 24 ROTHE, M. Die Nahrung 16, 473 (1972)
- 25 AMERINE, M. A.,
PANGBORN, R. M.,
ROESSLER, R. B. Principles of Sensory Evaluation
of Food. Academic Press New York
and London (1965)
- 26 NEY, K. H. Z. Lebensm. - Untersuch. - Forsch.
146, 141 (1971)
- 27 PILGRIM, F. H.,
SCHULTZ, H. G.,
PERYAM, D. R. Food Research 20, 310 (1955)
- 28 ADACHI, A.,
KAWAMURA, Y.,
OHARA, M.,
IKEDA, S. Symp. Amino Acid Nucleic Acid
12, 3 (1965)

- 29 KUNINAKA, A. in SCHULTZ, H. W., DAY, E. A.,
LIBBEY, L. W., : Chemistry and
Physiology of Flavours.
The AVI Publishing Co., Westport/Conn.
S. 515 (1967)
- 30 SOLMS, J. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F. :
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971)
- 31 AMOORE, J. E. in SCHULTZ, H. W., DAY, E. A.,
LIBBEY, L. W., : Chemistry and
Physiology of Flavours.
The AVI Publishing Co., Westport/Conn.
S. 119 (1967)
- 32 AMOORE, J. E. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F. :
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971)
- 33 WRIGHT, R. H. Ann. N. Y. Acad. Sci 116, 552 (1964)
- 34 WRIGHT, R. H.,
BURGESS, R. E. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F. :
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971)
- 35 MULLINS, L. J. Ann. N. Y. Acad. Sci 62, 249 (1955)
- 36 DRAVNIKS, A. Nature 194, 245 (1962)
- 37 DRAVNIKS, A. Ann. N. Y. Acad. Sci 116, 429 (1964)
- 38 TERANISHI, R. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F. :
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971)
- 39 SEIFERT, R. M.,
BUTTERY, R. G.,
GUADAGNI, D. G.,
BLACK, D. R.,
HARRIS, J. G. J. Agric. Food Chem. 18, 246 (1970)
- 40 JELLINEK, G. Fette - Seifen - Anstrichmittel
58, 910 (1956)

- 41 JELLINEK, G. J. Nutr. Diet. 1, 219 (1964)
- 42 TILGNER, D. J. Deut. Lebensm. Rundschau 54, 99 (1958)
- 43 KIERMEIER, F., Z. Lebensm. Unters. - Forschung
HAEVECKER, U. 141, 277 (1969)
- 44 ROBINSON-GÖRNHARDT, L. Verpackungs Rundschau, wiss.
Beilage 8, 65 (1957)
- 45 KRUM, J. Food Engineering 27, 74 (1955)
- 46 PERYAM, D. R., Food Technol. 4, 390 (1950)
SWARTZ, V. W.
- 47 BENGTTSSON, K., Wallerstein Lab. Commun. 9, 171
HELM, E. (1946) zit. nach AMERINE et al. (25)
- 48 KOUWENHOVEN, T. World Rev. Nutr. Diet. 12, 318 (1970)
- 49 HARRISON, S., Food Technol. 4, 434 (1950)
ELDER, L. W.
- 50 ASTM ASTM Spec. Techn. Publ. 434:
Manual on Sensory Methods
American Society for Testing Materials
Philadelphia / Pa (1969)
- 51 POSTEL, W., Z. Lebensm. Unters. - Forsch.
DRAWERT, F. 145, 245 (1971)
- 52 WILDBRETT, G. Milchwiss. 22, 673 (1967)
- 53 STEGER-MEINL, E. Deut. Molkerei-Ztg. 85, 594 (1964)
- 54 KIERMEIER, F., Z. Lebensm. Unters. - Forsch. 119, 135
RENNER, E. (1963)
- 55 LAFFORT, R. Ann. Nutr. Aliment. 23, 63 (1969)
- 56 JELLINEK, G. Fette - Seifen - Anstrichmittel 58,
1059 (1956)
- 57 HARRIES, J. M. Food Technol. 10, 86 (1956)

- 58 RENNER, E. Mathematisch-statistische Methoden
in der praktischen Anwendung.
Berlin - Hamburg: Parey 1970
- 59 HEMPENIUS, W. L., J. Food Sci. 52, 594 (1969)
LISKA, B. J.,
HARRINGTON, R. B.
- 60 TILGNER, D. J., Acta Physiol. Polon. 10, 741 (1959)
BARYLKO-PIKIELMA Zit. nach AMERINE et al. (25)
- 61 FISCHER, R. in OHLOFF, G., THOMAS, A. F.:
Gustation and Olfaction.
Academic Press London
and New York (1971) S. 187
- 62 DECKERT, H. J. Ernährungsforschung 15, 243 (1970)
- 63 SOLNCEVA, G. L., Ernährungsforschung 15, 273 (1970)
DINARIEVA, G. P.
- 64 BINDER, W. Deut. Molkerei-Ztg. 91, 1383 (1970)
- 65 JELLINEK, G. Ernährungswirtschaft 7, 243 u. 314 (1960)
- 66 GUTSCHMIDT, J. Deut. Lebensm. Rundschau 47, 244 (1951)
- 67 KIERMEIER, F., Z. Lebensm. Unter. - Forsch. 141, 277
HAEVECKER, U. (1969)
- 68 FREEMAN, T. R., J. Dairy Sci. 52, 341 (1969)
BUCY, J. L.
- 69 ROTHE, M., Ernährungsforschung 12, 311 (1967)
WOELM, G.
- 70 BRÜMMER, J. M. Brot u. Gebäck 24, 85 (1970)
- 71 HAEVECKER, U. Milchwirtsch. Ber. 25, 257 (1970)
- 72 JELLINEK, G. GORDIAN 68 (1968)
- 73 HAEVECKER, U. Ernährungs-Umschau 17, 312 (1970)
- 74 PAULUS, K., Deut. Molkerei-Ztg. 91, 423 (1970)
GUTSCHMIDT, J.,
FRICKER, A.

- 75 KLEMEN, R. Milchwirtsch. Ber. 25, 245 (1970)
- 76 WAGNER, K. G. Deut. Lebensm. Rundsch. 45, 145 (1949)
- 77 FRICKER, A. Ernährungs-Umschau 17, 308 (1070)
- 78 WAGNER, K. G. Deut. Lebensm. Rundsch. 45, 36 (1949)
- 79 VOSS, E. Die Molkerei-Ztg. 42 (1969)
- 80 VOSS, E. Milchwirtsch. Ber. 25, 269 (1970)
- 81 VOSS, E. Deut. Milchwirtsch. 19, 1722 (1968)
- 82 CAIRNCROSS, S. E., SJÖLSTRÖM, L. B. Food Technol. 4, 308 (1950)
- 83 PAULUS, K., GUTSCHMIDT, J., FRICKER, A. Lebensm. Wissensch. - Technol. 2, 132 (1969)
- 84 BALTES, W. Ernährungs-Umschau 20, 35 (1973)
- 85 WÜNSCH, A. Zit. nach SCHALLER, K., WÜNSCH, A., Die Nahrung 17, 415 (1973)
- 86 MEHLITZ, A., DREWS, H. Die Industr. Obst-Gemüse-Verwert. 44, 141 (1959)
- 87 GIERSCHNER, K., DREXLER, H. Gordian 69, 371 und 447 (1969)
- 88 BERRY, R. E., TATUM, J. H. J. Agric. Food Chem. 13, 588 (1965)
- 89 CRAIG, J. C., ACETO, N. C., DELLA MONICA, E. S. J. Dairy Sci. 44, 1827 (1961)
- 90 KEENEY, M., BASSETTE, R. J. Dairy Sci. 42, 945 (1959)
- 91 SAMUELSSON, E. G., NIELSEN, P. Milchwissensch. 25, 541 (1970)
- 92 EICHNER, K. Deut. Lebensm. - Rundsch. 69, 4 (1973)

- 93 OHLOFF, G. in SOLMS, J.: Fette als funktionelle Bestandteile von Lebensmitteln. Forster Verlag AG / Zürich / CH (1973)
- 94 NGD Norme di Grassi Derivati Edizione II (1957)
- 95 SEHER, A. Fette - Seifen - Anstrichmittel 61, 1211 (1959)
- 96 LINKENS, S. T., NICKERSON, G. B. Am. Soc. Brewing Chemists Proc. 5, 5 (1964)
- 97 HASHIMOTO, N. Rept. Res. Lab. Kirin Brewery Co. Ltd. 13, 1 (1970)
- 98 DRAHWERT, F., HEIMANN, W., EMBERGER, R., TRESSL, R. Chromatographia 2, 57 (1969)
- 99 WONG, N. P., PARKS, O. W. J. Dairy Sci. 51, 1768 (1968)
- 100 NEHRING, P. Die Industr. Obst-Gemüse-Verwert. 54, 625 (1969)
- 101 ROTHE, G., WÖLM, L., TUNGER, L., SIEBERT, H.-J. Die Nahrung 16, 483 (1972)
- 102 FRICKER, A., GUTSCHMIDT, J. Deut. Lebensm. Rundschau 68, 79 (1972)
- 103 ERBERSDOBLER, H. Kraftfutter 53, 172, 174, 228, 233, 236 (1970)
- 104 ERBERSDOBLER, H., ZUCKER, H. Milchwissensch. 21, 564 (1966)
- 105 ERBERSDOBLER, H. Milchwissensch. 25, 280 (1970)
- 106 ERBERSDOBLER, H. Naturwissenschaften 54, 648 (1967)
- 107 FERRETTI, A., FLANAGAN, P. J. Dairy Sci. 54, 1764 (1971)

- 108 FERRETTI, A., J. Dairy Sci. 54, 1769 (1971)
FLANAGAN, P.
- 109 BEYER, H. Lehrbuch der organischen Chemie
17. Aufl. S. Hirzel Verlag Stuttgart (1973)
- 110 SCHORMÜLLER, J., Z. Lebensm. Unters. - Forsch.
KOCHMANN, H. -J. 141, 1 (1969)
- 111 ASKAR, A., BIELIG, H. J., Deut. Lebensm. -Rundschau
TREPTOW, H. 69, 162 (1973)
- 112 BOGGS, M. M., J. Food Sci. 29, 487 (1964)
BUTTERY, R. G.,
VENSTRÖM, D. W.,
BELOTE, L. M. .

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. RENNER, danke ich für die Überlassung des Themas, für die vielseitige Anregung und Förderung bei der Durchführung der Arbeit und für die freundlichen Ratschläge bei der Auswertung der Ergebnisse.

Der Fa. Milupa AG in Friedrichsdorf gilt mein Dank dafür, daß sie mir in großzügiger Weise ermöglicht hat, die vorliegende Arbeit in ihrem Hause durchzuführen.

L e b e n s l a u f

- 4.10.1942 geboren in Chemnitz als Sohn des
technischen Angestellten Albert Römer
und dessen Ehefrau Ruth, geb. Stenglein.
- 1949 - 1963 Besuch der Volksschule in Oberpfaffen-
hofen, anschließend der Oberrealschule
in München-Pasing.
Abitur im Juni 1963.
- 1963 - 1965 Soldat auf Zeit, Ausscheiden
als Leutnant der Reserve.
- 1965 - 1970 Studium der Lebensmittelchemie
an der Universität München.
Studienabschluß: Hauptexamen als
Lebensmittelchemiker mit sehr gut
im Mai 1970.
- 1970 - Als Lebensmittelchemiker bei der
Fa. Milupa AG in Friedrichsdorf
beschäftigt.
Gleichzeitig Beginn der Promotions-
arbeit an der Universität Gießen.



